

В конце вегетационного периода было обнаружено небольшое повышение массы саженцев березы повислой (всего растения и его осевых органов) под влиянием высокой дозы азота. Саженцы карельской березы реагировали нарастанием массы на среднюю дозу подкормки азотом, когда масса всего растения увеличивалась на 42 %, а осевых органов – на 57 % по сравнению с контролем. Высокая доза подкормки не стимулировала наращивание массы саженцев карельской березы.

#### ВЫВОДЫ

• Уже на второй год жизни сеянцев двух форм *Betula pendula* Roth заметна разница в их азотном статусе. По сравнению с березой повислой карельская береза активнее синтезировала в листьях и корнях аминокислоты, лучше обеспечивала органы сеянца азотом, пропуская больший объем цитрулина по осевым органам.

• Внесение азотных удобрений в почву приводило к заметному повышению содержания белков в коре и древесине 2-летних саженцев карельской березы в период активной деятельности камбия. Подкормки высокими дозами азота стимулировали синтез аминокислот в листьях карельской березы и отток их по коре. В итоге саженцы карельской березы реагировали на азотные удобрения нарастанием массы всего саженца и, особенно, его осевых органов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Калинкина Л.Г., Назаренко Л.В., Гордеева Е.Е. Модифицированный метод выделения свободных аминокислот для определения на аминокислотном анализаторе // Физиология растений. 1990. Т. 37. Вып. 3. С. 617-621.
2. Чикина, П.Ф. Азотный обмен // Физиолого-биохимические основы роста и адаптации сосны на Севере. Л.: Наука, 1985. С. 57–82.
3. Forde B.G., Lea P.J. Glutamate in plants: metabolism, regulation and signaling, // Journal of Experimental Botany. 2007. Vol. 58. № 9. P. 2339–2358.
4. Maimann S., Wagner C., Kreft O., Zeh M., Willmitzer L., Höfgen R., Hesse H. Transgenic potato plants reveal the indispensable role of cystathionine  $\beta$ -lyase in plant growth and development // The Plant Journal. 2000. Vol. 23. P. 747–758.
5. Millard P. Ecophysiology of the internal cycling of nitrogen for tree growth // J. Plant Nutr. Soil Sci. 1996. Vol. 159. P. 1–10.
6. Millard P., Proe M.F. Nitrogen uptake, partitioning and internal cycling in *Picea sitchensis* (Bong) Carr. as influenced by nitrogen supply // New Phytol. 1993. Vol. 125. P. 113–119.
7. Roessner U., Luedemann A., Brust D., Fiehn O., Linke T., Willmitzer L., Fernie A.R. Metabolic profiling allows comprehensive phenotyping of genetically or environmentally modified plant systems // The Plant Cell. 2001. Vol. 13. P. 11–29.
8. Suarez M.F., Avila C., Gallardo F., Canton F.R., Garcia-Gutierrez A., Claros M.G., Canovas F.M. Molecular and enzymatic analysis of ammonium assimilation in woody plants // Journal of Experimental Botany. 2002. Vol. 53. № 370. P. 891–904.

### LIPID COMPOSITION OF TRUNK TISSUES IN CURLY BIRCH SAPLINGS AS RELATED TO FIGURED GRAIN FORMATION

*Shulyakovskaya T.A., Ilyinova M.K., Kanyuchkova G.K.*

Forest research institute of Karelian research center of Russian academy of sciences,  
Petrozavodsk, Pushkinskaya St., 11. Tel. (8142)768160. E-mail: sea39@rkmil.ru

Abstract. The content and fatty acid composition of three lipid fractions (neutral lipids, glycolipids, and phospholipids) in the trunk tissues of 7–8-year-old curly birch saplings were studied. The parameters were compared in saplings with normal and abnormal trunk development. The results show that neutral lipids in curly birch saplings with abnormal trunk development are distributed so that in the upper part of the trunk they are plentiful in the phelloderm, and in the lower part – in the wood. Thus, the most figured (lower) section of the trunk contains more neutral lipids in the wood than in the phelloderm. In addition, we found significantly higher content and unsaturation of phospholipid fatty acids in figured wood, mostly owing to linoleic acid (fatty acid with two double bonds). Comparison between curly birch plants with normal and abnormal development

revealed opposite gradients of change in the content of lipid fractions in the wood along the trunk: in curly birch with figured wood the content of all three lipid fractions (more explicitly neutral and phospholipids) increases towards the lower part of the trunk, whereas in straight-grained plants it decreases.

## ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ТКАНЕЙ СТВОЛА САЖЕНЦЕВ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ В СВЯЗИ С ФОРМИРОВАНИЕМ УЗОРЧАТОЙ ДРЕВЕСИНЫ

Шуляковская Т.А., Ильинова М.К., Каниючкова Г.К.

Учреждение Российской академии наук Институт леса КарНЦ РАН,  
г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11. Тел. (8142)768160. E-mail: sea39@rkmail.ru

*Betula pendula* var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti – карельская береза – ценное и морфологически необычное растение. Основная отличительная особенность карельской березы – аномальная узорчатая древесина. Свообразные темно-коричневые штрихи в сочетании с дающей блеск свилеватостью приводят к возникновению на обработанных поверхностях изделий из карельской березы неповторимого мраморовидного рисунка. Наибольшую хозяйственную ценность имеет сильно свилеватая древесина с многочисленными коричневыми включениями, которые представляют собой аномальные скопления паренхимы [4]. Образование древесины и коры является результатом деятельности камбия, гетеротрофная природа которого делает его полностью зависимым от притока фотоассимилятов. По флоэме осуществляется транспорт продуктов фотосинтеза к местам их потребления и, в частности в камбиальную зону, являющуюся в период утолщения ствола одним из основных акцепторов ассимилятов. Как известно, сахара – конечный продукт фотосинтеза и важнейшая транспортная форма углеводов в растениях [1].

Структурной основой клеточной мембраны является липидный бислой. Главное свойство липидного бислоя – текучесть, которая определяется его составом и имеет большое значение для выполнения мембранами своих функций, в том числе транспорта воды и ионов, восприятия внешних сигналов. От текучести мембранных липидов зависит форма белковой глобулы и, следовательно, активность связанных с мембранами ферментов [6]. Биологическая мембрана – это в высшей степени динамичная структура. Текучесть липидного слоя мембраны сама есть, в первую очередь, функция «упаковки» углеводородных цепей, а упаковка зависит от наличия двойных связей, т. е. от степени ненасыщенности жирнокислотных остатков липидов. Замена входящих в состав липидов жирных кислот позволяет влиять на функциональные характеристики мембран и на условия деятельности мембранных белков, не затрагивая белковую часть мембраны. Необходимый уровень насыщенности мембранных липидов поддерживается отношением скорости двух процессов: синтеза жирных кислот *de novo*, что дает постоянный приток насыщенных кислот к мембране, и десатурации, которая поддерживает нужный уровень ненасыщенности и функциональное состояние мембраны для выполнения ею функций в определенных условиях [5, 9, 10, 11].

В нашей работе саженцы карельской березы из семян одной партии, растущие в одинаковых условиях, к семилетнему возрасту имели разные особенности внешнего и внутреннего строения ствола. Среди экспериментальных объектов мы выделили две группы растений: саженцы нормального строения (ровные гладкие стволы, прямослойная древесина) и саженцы аномального строения, что внешне выражалось в образовании на стволах утолщений, а также изменении текстуры древесины ствола, появлении узорчатости древесины. Для раскрытия механизма такого развития необходимо изучить особенности метаболизма, определяющие структурные отклонения от нормы. Целью данной работы было исследование основных показателей липидного обмена в тканях ствола, а именно: содержания и жирнокислотного состава липидов всех фракций, сравнительная характеристика данных показателей у саженцев с нормальным и аномальным развитием ствола. Это поможет выделить особенности липидного метаболизма, характерные для формирования аномальной структуры древесины карельской березы.

У карельской березы с аномальным развитием (проявившейся) ствол (ниже кроны) разделили на 4 части. Самая верхняя часть ствола имела слабое проявление узорчатости древесины, самая нижняя была наиболее насыщена по рисунку древесины. Сверху вниз по стволу наблюдалось усиление насыщенности рисунка древесины, т. е. признака «карелистости». У карельской березы нормального развития (непроявившейся) слабое проявление свилеватости (нарушения вертикально-

тяжевой ориентации в древесине) отмечали только в самой нижней части ствола. Со ствола такой березы отбирали образцы тканей из верхней, средней и нижней части. Проводили отбор наружного слоя древесины и феллодермы – паренхимы коры. Отбор образцов проходил в период активной камбиальной деятельности (утолщения ствола) – вторая половина июля (возраст саженцев 7 лет) и во время покоя по окончании вегетационного периода – вторая половина октября 2009 г., когда саженцы становились уже восьмилетними. Растительный материал фиксировали в жидком азоте, высушивали в лиофильной сушилке. Экстракцию липидов проводили смесью хлороформа и метанола в соотношении 2:1 по объему. Фракционирование суммарных липидов осуществляли методом колоночной хроматографии. В качестве колонки использовали Пастеровские пипетки длиной 145 мм, заполненные силикагелем Bio-Sil A100-200 mesh. На колонку с силикагелем переносили липидный экстракт, растворенный в хлороформе, и элюировали растворителями отдельные фракции: хлороформом – нейтральные липиды (НЛ), ацетоном – гликолипиды (ГЛ), метанолом – фосфолипиды (ФЛ). Жирные кислоты (ЖК) липидных фракций исследовали в виде их метиловых эфиров, которые получали переэтерификацией липидов метанолом в присутствии ацетилхлорида, и разделяли на хроматографе «Хроматэк – Кристалл-5000.1» (Йошкар-Ола, Республика Марий Эл). Колонка Zebtron ZB-FFAP капиллярная 50 м x 0,32 мм. Анализ проводили в изотермическом режиме: температура колонки 225°C, испарителя 240°C, детектора 250°C. Газ-носитель – азот, 50 мл/мин. Идентифицировали жирные кислоты с помощью метчиков – стандартных жирных кислот (Supelco 37 компонентов), а также посредством сравнения полученных экспериментальных величин эквивалентных длин цепей (ECL) с табличными данными величин ECL метиловых эфиров цис-ненасыщенных жирных кислот. Содержание жирных кислот в липидах определяли с помощью внутреннего стандарта – маргариновой кислоты, которую вносили в определенном количестве в образец перед метилированием. Все жирные кислоты распределяли по группам в зависимости от степени ненасыщенности: моноеновые (М) – в углеродной цепочке имеется одна двойная связь; диеновые (Д) – две; триеновые (Тр.) – три; тетраеновые (Тетр.) – четыре и насыщенные (Н) – без двойных связей. Индекс ненасыщенности (ИН) рассчитывали по методу D. Lyons [8].

Проведенные исследования показали, что у проявившейся карельской березы в направлении увеличения узорчатости древесины, т. е. сверху вниз по стволу, росло содержание жирных кислот (а, следовательно, и липидов) всех трех липидных фракций древесины. Количество нейтральных липидов возрастало в 2,5 раза, гликолипидов – в 1,3 раза, а фосфолипидов – наиболее существенно: в 2,9 раза (рис. 1, 2). В феллодерме в том же направлении уменьшалось содержание жирных кислот нейтральных липидов в 3 раза от первого до третьего участка ствола (рис.1). Содержание жирных кислот фосфолипидов падало в 1,7 раза к третьему участку и росло в 1,6 раза к нижнему участку. Количество жирных кислот гликолипидов в начале снижалось, а к нижнему участку росло до уровня верхнего (рис. 2).

При сравнении содержания жирных кислот в древесине и феллодерме одних и тех же участков ствола в июле (рис.1) отмечено, что в верхней половине ствола (1–2 участки) имело место преобладание жирных кислот нейтральных липидов в феллодерме в 3,6–3,8 раза, а к участкам 3–4 наступало преимущество древесины по содержанию жирных кислот нейтральных липидов в 1,2–1,4 раза. Суммарное содержание жирных кислот нейтральной фракции в феллодерме и древесине в верхней части ствола составляло, примерно, 17 мг/г сухого вещества, а в нижерасположенных частях ствола держалось на уровне 10–12 мг/г. Значит, верхняя часть ствола содержала в своей феллодерме значительное количество нейтральных липидов, которое постепенно падало при продвижении вниз, при этом рос уровень нейтральных липидов древесины. В верхней части ствола (сразу под кроной) в паренхимных клетках флоэмы накапливались ассимиляты, образованные в листьях в результате активного фотосинтеза и не использованные в процессе роста, их излишек превращался в липиды и оседал в паренхимных клетках. В нижних участках ствола таких запасов нейтральных липидов в паренхиме флоэмы становилось меньше, но росло количество подобных запасов в ксилеме (древесине). Чем ниже по стволу участок древесины, тем выше запасы нейтральных липидов в ней и тем более узорчатый рисунок древесины. Накопление запасных липидов в паренхимных клетках древесины сопровождалось повышением свилеватости транспортных путей и усилением узорчатости древесины карельской березы.

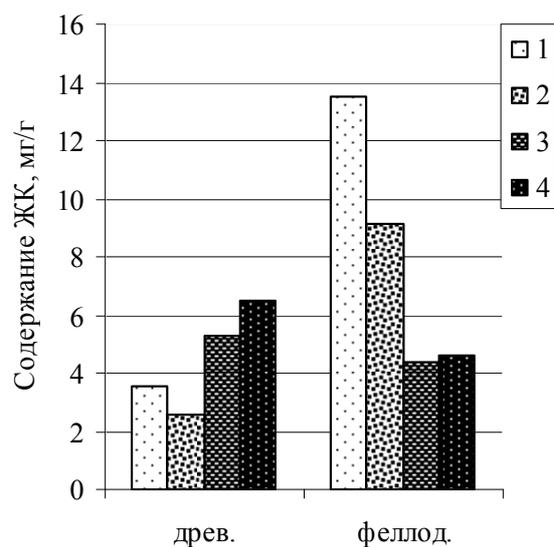


Рисунок 1. Содержание ЖК НЛ в древесине и феллодерме разных участков ствола проявившейся 7-летней карельской березы (июль). 1–4 - участки ствола

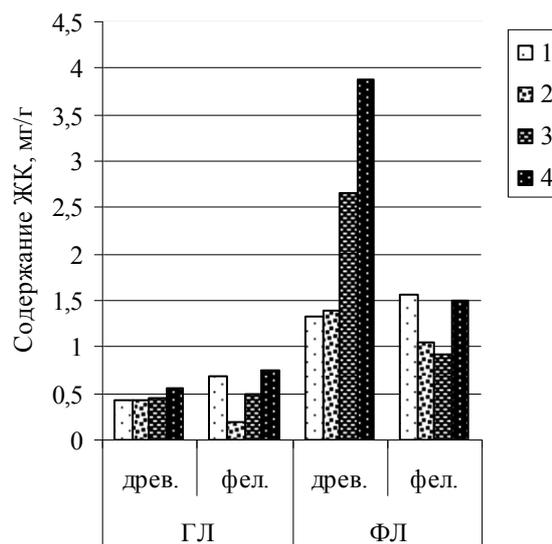


Рисунок 2. Содержание ЖК мембранных липидов в древесине и феллодерме разных участков ствола проявившейся 7-летней карельской березы (июль)

Анатомо-цитологический анализ показал, что рисунок древесины карельской березы формируется в результате заложения обильных прослоек клеток запасующей паренхимы, создающих характерный узор в виде темноокрашенных черточек и V-образных включений; клетки запасующей паренхимы в зонах структурных аномалий содержат большое количество липидных капель, что указывает на накопление в них нейтральных липидов [7].

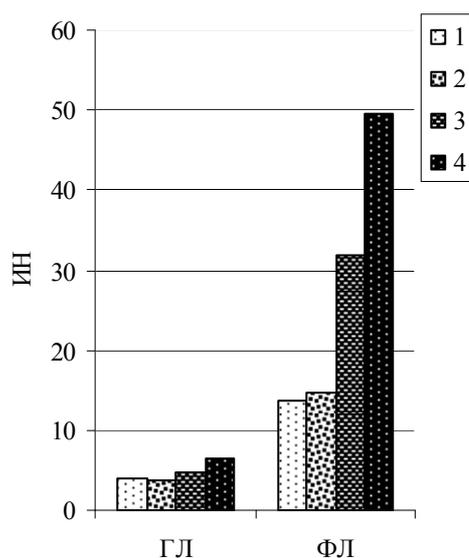


Рисунок 3. ИН ЖК мембранных липидов древесины разных участков ствола проявившейся карельской березы

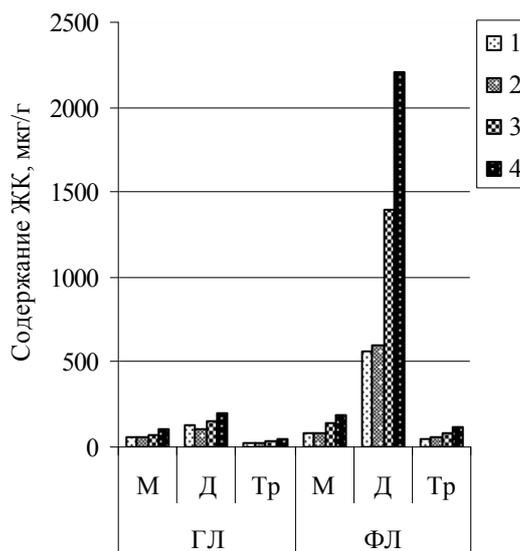


Рисунок 4. Содержание групп ЖК мембранных липидов в древесине разных участков ствола проявившейся карельской березы

Из мембранных липидов наблюдалось существенное преобладание фосфолипидов в древесине двух нижних участков ствола (в 2,6–2,9 раза) (рис. 2). В фосфолипидах древесины сверху вниз существенно рос индекс ненасыщенности (в 3,6 раза) (рис. 3), главным образом, за счет ди-

новых кислот, которые увеличивали свое содержание в 4 раза к нижнему участку ствола (рис. 4). В основном, это линолевая кислота (18:2). У гликолипидов при этом индекс ненасыщенности возрастал в 1,6 раза, а диеновые кислоты (в основном, линолевая) – в 1,7 раза. Таким образом, в участках древесины ствола, содержащих много нейтральных липидов, существенно возрастал уровень фосфолипидов, причем среди жирнокислотных остатков этих фосфолипидов преобладала линолевая кислота. Значит, повышенное образование липидных капель в узорчатой древесине приводило к увеличению содержания мембранных липидов (фосфолипидов), а последние нарастали за счет липидов с высоким содержанием линолевой кислоты. Дополнительный синтез фосфолипидов мог быть связан с необходимостью образования дополнительных мембран, ограничивающих многочисленные липидные капли.

Главная функция мембранных липидов состоит в том, что они формируют бислоиный матрикс, с которым взаимодействуют белки. От состава мембранных липидов, то есть от наличия двойных связей, или от степени ненасыщенности жирнокислотных остатков, зависит плотность упаковки липидов и, соответственно, текучесть мембраны. Физическое состояние липидного бислоя влияет на каталитическую активность многих мембранных ферментов. Липиды при этом могут выполнять две функции: создавать необходимую среду и действовать как аллостерический регулятор, модулирующий активность фермента путем стабилизации его в определенной конформации [2, 3].

Сравнение проявившейся и непроявившейся карельских берез между собой показывает, что в древесине первой из берез содержание ЖК НЛ и ФЛ значительно преобладает в нижней части ствола по сравнению с верхней, тогда как у непроявившейся березы картина обратная, а именно, заметное преобладание отмечено в верхней части ствола (рис. 5), т. е. наблюдается зеркальное отражение соотношения уровней ЖК липидных фракций в древесине разных частей ствола у берез с разной текстурой древесины.

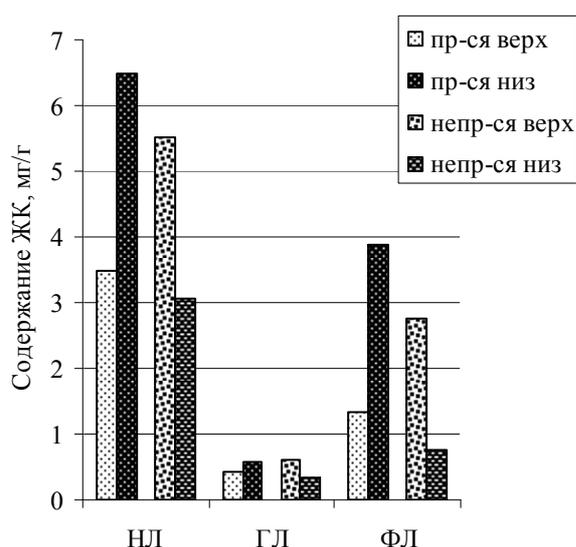


Рисунок 5. Содержание ЖК фракций липидов древесины верхней и нижней частей ствола проявившейся и непроявившейся карельской березы

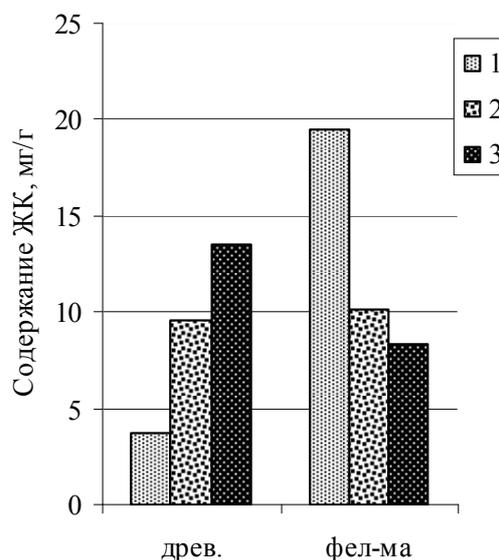


Рисунок 6. Содержание ЖК НЛ в древесине и феллодерме разных участков ствола проявившейся 8-летней карельской березы (октябрь)

В октябре, когда у деревьев, ставших уже восьмилетними, наступил период покоя по завершении вегетационного периода, в разных частях ствола проявившейся карельской березы наблюдалось разное распределение нейтральных липидов в феллодерме и древесине: в верхней части ствола нейтральных липидов гораздо больше в феллодерме, чем в древесине (более чем в 5 раз), в средней части – примерно поровну, а в нижней части возросший уровень нейтральных липидов в древесине превышал их снизившийся уровень в феллодерме (рис. 6). Получается,

что, примерно одинаковое суммарное количество жирных кислот нейтральных липидов в изученных тканях ствола (20 - 23 мг на г сухого вещества) по длине ствола по-разному распределено по его тканям. В результате вегетационного периода происходило накопление нейтральных (можно считать запасных) липидов в наиболее узорчатой части древесины ствола карельской березы. В древесине проявившейся карельской березы содержание ЖК мембранных липидов и их ненасыщенность росли одновременно, т. е. рост ЖК липидных фракций происходил за счет ненасыщенных кислот.

#### ВЫВОДЫ

- Узорчатая древесина карельской березы содержит в клетках паренхимы значительное количество нейтральных липидов, которые в большинстве своем представляют запасные липиды.
- При этом в узорчатой древесине отмечен существенный рост содержания и ненасыщенности жирных кислот фосфолипидов, в основном, за счет линолевой кислоты.
- Сравнение проявившейся карельской березы с не проявившейся показывает противоположный характер изменения содержания липидных фракций в древесине по длине ствола: у карельской березы с признаками «карелистости» содержание всех трех фракций липидов растет к нижней (наиболее узорчатой) части ствола, а у березы без признаков падает.
- Все вышеизложенное дает возможность предположить, что при образовании аномальной текстуры древесины карельской березы происходит накопление запасных нейтральных липидов в паренхимных клетках древесины, а также возрастание содержания мембранных липидов, в большей степени фосфолипидов, причем с повышенной ненасыщенностью жирнокислотных остатков. Увеличение ненасыщенности жирных кислот мембранных липидов указывает на изменение свойств клеточных мембран, а, следовательно, и их функционального состояния, что приводит к изменению метаболизма и направленности дифференциации клеток камбия ствола карельской березы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гамалей Ю.В. Транспортная система сосудистых растений. СПб., 2004. 424 с.
2. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции. М., 1997. 622 с.
3. Гринштейн С.В., Кост О.А. Структурно- функциональные особенности мембранных белков // Успехи биологической химии. 2001. Т. 41. С. 77-104.
4. Коровин В.В., Новицкая Л.Л., Курносков Г.А. Структурные аномалии стебля древесных растений. М., 2003. 280 с.
5. Крепс Е.М. Липиды клеточных мембран Л., 1981. 339 с.
6. Кузнецов Вл.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. М., 2006. 742 с.
7. Новицкая Л.Л. Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий. Петрозаводск, 2008. 44 с.
8. Lyons J.M., Wheaton T.A., Pratt H.K. Relationship between the physical nature of mitochondrial membranes and chilling sensitivity in plants // Plant Physiol. 1964. Vol. 39. № 2. P. 262–268.
9. Ohlrogge J.B. Design of new plant products: Engineering of fatty acid metabolism // Plant Physiology. 1994. Vol. 104. P. 821–826.
10. Ohlrogge J., Browse J. Lipid biosynthesis // Plant Cell. 1995. Vol. 7. P. 957–970.
11. Shanklin J., Cahoon E.B. Desaturation and related modifications of fatty acids // Annu. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol. 1998. Vol. 49. P. 611–641.

#### STATE OF KARELIAN BIRCH PLANTATIONS IN THE REPUBLIC OF KARELIA

*Shurova M.L.*

Karelian forest seed station, Petrozavodsk, Russia, E-mail: czlspb.rk@rambler.ru

Abstract. History of investigation, artificial reproduction and current status of karelian birch are presented.