

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
МУРМАНСКИЙ МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Клиндух Мария Петровна

**Свободные аминокислоты *Fucus vesiculosus* L. Баренцева моря
и их динамика под влиянием факторов внешней среды**

1.5.16 – Гидробиология

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник ММБИ РАН
Рыжик Инна Валериевна

Мурманск – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1 Литораль – специфическая среда для жизни.....	11
1.2 Фитоценозобразующие водоросли-макрофиты приливно-отливной зоны....	12
1.3 Адаптация водорослей к воздействию факторов среды.....	16
1.4 Свободные аминокислоты (САК): роль, функции, качественный состав, концентрация, распределение по таллому.....	24
1.5 Влияние абиотических факторов на качественный состав и концентрацию САК у водорослей.....	30
1.6 Сезонные изменения качественного состава и концентрации САК у водорослей.....	36
1.7 Качественный состав и концентрация САК у водорослей в разные фазы жизненного цикла.....	37
1.8 Суточные изменения качественного состава и концентрации САК у водорослей.....	39
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	43
2.1 Гидролого-гидрохимическая характеристика мест отбора проб.....	44
2.2 Объекты исследования.....	52
2.3 Методы исследования.....	53
2.3.1 Определение факторов внешней среды.....	53
2.3.2 Определение качественного состава и концентрации САК.....	54
2.3.3 Определение массовой доли сухого вещества в водорослях.....	59
2.4 Проведённые исследования.....	60
2.4.1 Исследование водорослей из природных популяций.....	60
2.4.2 Экспериментальные исследования.....	62
2.5 Статистическая обработка и анализ данных.....	64
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	66

3.1 Качественный состав и концентрация САК у <i>Fucus vesiculosus</i> и родственных видов фукусовых водорослей (<i>F. distichus</i> и <i>F. serratus</i>) Баренцева моря.....	66
3.2 Распределение САК по таллому <i>F. vesiculosus</i>	71
3.3 Суточные изменения качественного состава и концентрации САК у <i>F. vesiculosus</i> в период полярного дня.....	78
3.4 Сезонные изменения качественного состава и концентрации САК у <i>F. vesiculosus</i>	91
3.5 Распределение САК по таллому <i>F. vesiculosus</i> в разные сезоны года.....	106
3.6 Влияние температуры и солёности на качественный состав и концентрацию САК у <i>F. vesiculosus</i> в естественных условиях.....	118
3.6.1 Температура.....	122
3.6.2 Солёность.....	128
3.7 Экспериментальные исследования.....	134
3.7.1 Влияние отрицательных температур на концентрацию пролина у <i>F. vesiculosus</i>	134
3.7.2 Влияние опреснения на качественный состав и концентрацию САК у <i>F. vesiculosus</i>	137
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	149
ВЫВОДЫ.....	154
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	156
ПРИЛОЖЕНИЕ А. Дополнительные данные в таблицах.....	184

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень её разработанности

Значительную часть побережья Баренцева моря занимает приливно-отливная зона (литораль). Особенностью абиотических факторов литорали является их циклическая изменчивость, связанная с влиянием приливно-отливных циклов, что создаёт для обитающих здесь организмов уникальную комбинацию внешних факторов со сменой среды обитания с водной на воздушную и обратно. Приливно-отливной цикл имеет несколько ритмов: полусуточный (12,5 ч) и синодический (29,5 сут). Поэтому возможность существования организмов на литорали должна быть связана с генетически закрепленными адаптивными механизмами, определяющими сложную систему регуляции их метаболизма. Биохимическая или регуляторная пластичность у растений приливно-отливной зоны рассматривается как индуцированная метаболическая реакция на изменения условий окружающей среды [121].

К приспособлениям, которые обеспечивают возможность произрастания фототрофов в приливно-отливной зоне, можно отнести изменение направленности физиологических процессов (переход с углеводного на белковый обмен), изменение типа фотосинтеза (чередование САМ – С3-типа), активацию антиоксидантной системы, синтез/деградацию веществ, выполняющих сигнальную, регулирующую и другие функции.

На побережье Баренцева моря одними из основных продуцентов – фотоавтотрофных организмов, занимающих зону литорали, являются водоросли-макрофиты. *Fucus vesiculosus* Linnaeus 1753 является наиболее массовым видом бурых водорослей, широко распространённым вдоль побережья Северной Атлантики и Баренцева моря, одним из главных фитоценозообразующих видов [8, 50, 114].

Произрастая в приливно-отливной зоне, *F. vesiculosus* обладает комплексом физиологических и биохимических реакций, которые позволяют ему своевременно реагировать на изменения условий обитания, в частности на

осушение/затопление, изменение уровня инсоляции, температуры среды, солёности и другие факторы, значительно меняющиеся в процессе приливно-отливного цикла. Реакции формируются на клеточном и организменном уровне и запускаются в ответ на изменение силы воздействия какого-либо фактора, позволяя поддерживать гомеостаз на постоянном уровне [10].

В формировании ответной реакции организма на изменение факторов среды принимают участие ферментные и неферментные системы, различные органические соединения, клеточные метаболиты и их комплексы. Одними из таких веществ являются свободные аминокислоты (САК), выполняющие в клетках разнообразные функции: от непосредственного участия в синтетических процессах до участия в адаптационных перестройках в качестве антиоксидантов, осмолитов, криопротекторов, транспортировщиков и др. [7, 40, 70, 92, 141, 142, 208, 210]. Концентрация САК отражает не только интенсивность метаболических процессов в клетках, но и дает информацию о взаимодействии организма с внешней средой [77, 127, 128, 135, 145, 181, 193, 220].

Работы по исследованию качественного состава и концентрации САК у *F. vesiculosus*, как и у многих видов макроводорослей, по большей части носят прикладной характер, и связаны с использованием водорослей в качестве пищевых объектов и исследованием влияния САК на организм человека [22, 34, 59, 95, 161, 183, 191, 213, 217], тогда как роль САК в метаболизме самих водорослей рассматривается в значительно меньшей степени [77, 85, 160, 181, 222]. Однако исследования роли САК важно для понимания механизмов адаптационных процессов водорослей, особенно в условиях меняющейся среды. Исследование биохимических изменений, которые происходят во время различных фаз приливно-отливного цикла, помогут объяснить внутренние особенности и закономерности, благодаря которым разные виды водорослей-макрофитов распределены по зонам литорали.

Цель работы: выявить участие свободных аминокислот *F. vesiculosus* Баренцева моря в формировании ответных реакций организма на изменения факторов среды.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Проанализировать качественный состав и концентрацию САК *F. vesiculosus* и сравнить с родственными видами (*F. serratus* и *F. distichus*).
2. Выявить суточную динамику качественного состава и концентрации САК *F. vesiculosus* и факторы её определяющие.
3. Проанализировать динамику качественного состава и концентрации САК *F. vesiculosus* в течение года и их перераспределение по частям таллома.
4. Определить влияние температуры и солёности воды на качественный состав и концентрацию САК *F. vesiculosus* в естественных и экспериментальных условиях.

Научная новизна. Впервые для *F. vesiculosus* Баренцева моря выявлена суточная динамика качественного состава и концентрации САК в летний период (полярный день) и показано влияние на неё приливно-отливного цикла, температуры, солёности.

Впервые для *F. vesiculosus* Баренцева моря определён качественный состав и концентрация САК в разных участках таллома, показано перераспределение аминокислот по таллому в зависимости от сезона года и фазы развития организма (покой, активация роста, рост, накопление запасных веществ). На основании совокупного анализа динамики концентрации САК и изменений других физиологических показателей (скорость роста, метаболическая активность клеток, интенсивность фотосинтеза/дыхания) можно определить время наступления/смены фаз развития у *F. vesiculosus*.

Показано, что на концентрацию, соотношение и распределение САК по таллому *F. vesiculosus* оказывают влияние температура и солёность окружающей среды. Характер и степень влияния зависят от фазы развития водоросли. Накопление пролина в осенний период связано с наличием эндогенной регуляции метаболических процессов, направленных на подготовку водорослей к зимнему периоду.

Теоретическая значимость. Полученные результаты дополняют современные сведения о биохимическом составе макроводорослей,

свидетельствуют о лабильности пула САК у *F. vesiculosus*, участии САК в формировании ответного отклика водорослей на изменение факторов внешней среды, что может быть использовано для выявления общих и частных закономерностей приспособительных реакций растений, а также механизмов адаптации, определяющих географическое распространение макроводорослей.

Практическая значимость. Данные о концентрации и соотношении САК у *F. vesiculosus* могут использоваться для диагностики состояния водорослей, при оценке состояния окружающей среды, а также при разработке технологий интенсивной аквакультуры водорослей для получения сырья с заданными свойствами. Полученные данные могут быть включены в учебные материалы и циклы лекций по альгологии, биохимии и экологической физиологии растений.

Методология и методы исследования. В качестве теоретико-методологической базы были использованы труды российских и зарубежных учёных, посвящённые влиянию внешних факторов на водоросли-макрофиты, проблемам их культивирования, исследованию биологически активных компонентов водорослей и их применению в качестве пищевых добавок. Авторами данных работ являются Барашков Г.К., Подкорытова А.В., Макаров М.В., Шошина Е.В., Воскобойников Г.М., Репина О.И., Birkemeyer C., Diouris M., Dittami S.M., Gómez I., Wiencke C., Gupta V., Impellizzeri G., Khaleafa A.F., Mohsen A.F., Kumar M., Munda I., Nygård C.A., Dring M.J., Srivastava L.M., Schmitz K., Lüning K. и др.

При решении поставленных задач были применены общенаучные (анализ литературных данных, индуктивный и дедуктивный методы, наблюдение, эксперимент, статистический анализ) и физико-химические методы исследования (высокоэффективная жидкостная хроматография, ионообменная хроматография, капиллярный электрофорез, спектрофотометрический и гравиметрический методы). Для статистического анализа данных были использованы программы Microsoft Excel 2010 и NCSS 11 Statistical Software.

Положения, выносимые на защиту:

1. Для САК у *Fucus vesiculosus* Баренцева моря характерна суточная динамика, связанная с приливно-отливным циклом.
2. Качественный состав и концентрация САК у *Fucus vesiculosus* Баренцева моря, соотношение аминокислот и их распределение по таллому имеют сезонную динамику, связанную с факторами среды и фазой развития водорослей.
3. Анализ сезонной динамики и распределения САК по таллому позволяет определить временные границы 4 фаз развития *F. vesiculosus* в течение года: покой, активация роста, рост, накопление запасных веществ. Переход в фазу роста у *F. vesiculosus* зависит от действующих температур весной.
4. САК участвуют в формировании ответных реакций *F. vesiculosus* к изменению температуры среды, солёности морской воды и осушению в период приливно-отливного цикла.

Достоверность результатов исследования обеспечивается использованием традиционных и современных апробированных методов исследования, статистической обработкой полученных данных, прохождением процедуры рецензирования при опубликовании материалов диссертации, обсуждении полученных результатов на российских и международных конференциях.

Апробация результатов. Материалы диссертации были представлены и обсуждались на российских и международных конференциях:

- XXIX конференция молодых учёных Мурманского морского биологического института, посвящённая 140-летию со дня рождения Г.А. Ключе. Мурманск, 19-20 мая 2011 г.
- Международная научная конференция «Арктическое морское природопользование в XXI веке – современный баланс научных традиций и инноваций (к 80-летию ММБИ КНЦ РАН)». Мурманск, 1-3 апреля 2015 г.
- XXXIV конференция молодых учёных ММБИ КНЦ РАН, посвящённая 50-летию со дня рождения члена-корреспондента РАН Д.Г.

Матишова. «Перспективные направления исследований экосистем арктических и южных морей России». Мурманск, 13 мая 2016 г.

- XXXV Конференция молодых учёных ММБИ КНЦ РАН, посвящённая году экологии в России. «Исследование экосистем морей Арктики». Мурманск, 18 мая 2017 г.

- IV (XII) Международная ботаническая конференция молодых учёных. Санкт-Петербург, 22-28 апреля 2018 г.

- XXXVI Конференция молодых учёных ММБИ КНЦ РАН, посвящённая 40-летию научно-исследовательского судна «Дальние Зеленцы». Мурманск, 17 мая 2018 г.

- IV Всероссийская научная конференция с международным участием «Водоросли: проблемы таксономии, экологии и использование в мониторинге». Санкт-Петербург, 24-28 сентября 2018 г.

- XXXIX конференция молодых учёных Мурманского морского биологического института «Исследование экосистем морей Арктики», посвящённая году науки и технологий РФ. Мурманск, 27-28 апреля 2021 г.

- Международная научная конференция, посвящённая 150-летию Севастопольской биологической станции – Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий». «Изучение водных и наземных экосистем: история и современность». Севастополь, 13–18 сентября 2021 г.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 13 работ, в том числе 4 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК, 2 статьи в международных журналах, входящих в базы данных рецензируемой научной литературы Web of Science и Scopus, и 7 публикаций в сборниках материалов и тезисов международных и российских конференций. В статьях, опубликованных в соавторстве, вклад соискателя состоит в разработке исследования, сборе образцов, получении данных, обсуждении и написании текста. Права соавторов публикаций не нарушены.

Связь с плановыми и научными программами. Работы, выполненные и представленные в диссертации, проводились в рамках государственного задания ФГБУН ММБИ РАН по темам НИР.

Личный вклад соискателя. Автором выполнен анализ литературных данных, подготовка, обработка и лабораторные исследования материала, анализ и обобщение полученных результатов. Автор осуществлял самостоятельный сбор материала, принимал активное участие в планировании и проведении экспериментальных работ. Написание текста диссертации осуществлялось лично автором с учётом редакторской правки научного руководителя.

Структура и объём работы. Диссертационная работа включает введение, 3 главы, заключение, выводы, список литературы и приложение. Общий объём работы составляет 190 страниц. В тексте содержится 28 рисунков и 22 таблицы. Библиографический список представлен 229 источниками, из которых 155 опубликованы в иностранных изданиях.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю к.б.н. И.В. Рыжик за помощь в выполнении работы, определение стратегии исследований, редакторскую правку, за мудрые советы и душевную поддержку, искреннюю признательность д.б.н. М.В. Макарову и д.б.н. Г.М. Воскобойникову за редакторскую правку, советы и помощь при выполнении исследований, к.б.н. М.Ю. Меньшаковой, к.б.н. М.М. Куклиной за помощь в выполнении работы, консультации и рекомендации, сделанные в процессе проведения исследований и при написании работы, а также д.фарм.н. Е.Д. Облучинскую за научное руководство исследованиями на начальном этапе работы.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Литораль – специфическая среда для жизни

Баренцево море относится к морям приливного типа. У его южных берегов основную роль в формировании уровня вод играют приливно-отливные явления [43]. В юго-западной части моря приливы, как правило, правильные полусуточные, а в юго-восточной части на отдельных участках встречаются неправильные полусуточные приливы [43, 73]. Средняя величина прилива в южной части моря увеличивается с запада на восток от 2 м до 4 м; в юго-восточном районе Баренцева моря уменьшается с запада на восток от 4 м до 0,5 м [73]. Ледяной покров в зимний период несколько уменьшает высоту прилива и вызывает запаздывание наступления полных и малых вод [43].

За счет приливно-отливных явлений на побережье формируется хорошо выраженная приливно-отливная зона или литораль. Литораль (литоральная зона, приливно-отливная зона, прибрежная полоса) – зона морского дна, затопляемая во время прилива и осушаемая при отливе [54]. Приливно-отливная зона располагается между уровнями воды в самый низкий отлив и самый высокий прилив [5]. По вертикали её разделяют на три части: нижнюю, расположенную между нулем глубин (уровень сизигийного отлива) и уровнем квадратурного отлива, среднюю – между уровнями квадратурного прилива и отлива, верхнюю – между уровнями квадратурного и сизигийного приливов [54].

Суточные циклы приливов и временные колебания условий окружающей среды делают приливно-отливную зону крайне неоднородной по абиотическим условиям и сложной средой обитания для роста и выживания макроводорослей [121, 200]. Дважды в сутки литоральные водоросли испытывают изменение таких параметров среды, как температура, освещенность, солёность, доступность воды, минеральных и биогенных элементов [148]. При этом необходимо учитывать пространственную и временную изменчивость абиотических факторов в приливно-отливной зоне [121]. Организмам необходимо обладать способностью

быстро адаптироваться к изменениям условий окружающей среды для обитания на литорали [200].

В приливо-отливной зоне степень и длительность воздействия абиотических факторов на организмы определяются их расположением на горизонтах литорали: способность жить в условиях более широкого диапазона изменчивости абиотических факторов характерна для водорослей, произрастающих в верхней части литорали; более чувствительные к изменениям внешних условий среды виды макроводорослей произрастают в нижней её части. Способность водорослей литоральной зоны произрастать в широких диапазонах изменения факторов внешней среды связывают с наличием морфологических защитных механизмов, быстрых биохимических и физиологических реакций на приливо-отливные нагрузки, и со способностью восстанавливаться после них [113, 200].

Растения, произрастающие в литоральной зоне, обладают более высоким уровнем адаптации по сравнению с растениями из менее гетерогенных сред. Биохимическая или регуляторная пластичность у растений приливо-отливной зоны рассматривается как индуцированная метаболическая реакция на изменения условий окружающей среды [121]. Исследование физиологических изменений, которые происходят у водорослей во время различных фаз приливо-отливного цикла, помогут объяснить внутренние особенности и закономерности, благодаря которым разные виды макрофитов распределены по зонам литорали.

1.2 Фитоценозобразующие водоросли-макрофиты приливо-отливной зоны

Водоросли рода *Fucus* относятся к широко распространённым массовым видам водорослей на Мурманском побережье. Для них характерно крупное слоевище, в виде кустов различной величины, сильно дихотомически разветвлённое, с центральной жилкой и воздушными пузырями различной формы на каждой ветви. Слоевище крепится к субстрату за счёт ризоидов, которые уплотняются в коническую подошву. На концах ветвей формируются

рецептакулы, на которых находятся специальные углубления – концептакулы. В них происходит развитие гаметангиев. На поверхности слоевища расположены криптостомы – углубления с волосками. Рост слоевища осуществляется благодаря деятельности верхушечных клеток [17].

Самостоятельной формой развития является спорофит. Гаметофит редуцирован. Он развивается на спорофите из споры и представляет собой слой клеток, выстилающих полость концептакулов. Мейоз происходит при образовании антеридиев и оогониев [56].

Слоевище водорослей рода *Fucus* состоит из более или менее плотно соединённых клеток, образующих примитивные ткани. Для представителей этого рода характерна высшая среди водорослей степень дифференцировки как тканей, так и внешней формы слоевища. У фукоидов выделяют несколько слоёв клеток: центральный слой, состоящий из ситовидных трубок и гиф и являющийся проводящей тканью, средний и промежуточный слои, состоящие из крупных бесцветных клеток, заполненных запасными веществами, коровый слой, являющийся ассимиляционной тканью, и меристодерму, которая находится в пределах корового слоя, и отвечает за рост таллома. Гифообразные клетки присутствуют и в промежуточном слое у фукусовых водорослей. Краевые клетки таллома покрыты кутикулой, защищающей от механического повреждения внутренние ткани [17, 24, 35].

Ростовые процессы у фукусовых водорослей Баренцева моря имеют отчётливо выраженный годовой ритм. Период быстрого роста, когда ростовые процессы являются доминирующими, приходится на март-август. При этом фаза интенсивного формирования фотосинтетической поверхности приходится на март-июнь, а фаза накопления массы и завершения вегетативного развития – на июль-август. Период замедленного роста, когда скорость роста снижается до минимальных значений и процессы деструкции преобладают над процессами роста, приходится на сентябрь-февраль [41].

***Fucus vesiculosus* Linnaeus 1753** – фукус пузырчатый (рисунок 1.1). Является бореально-арктическим видом, распространённым в Атлантическом и

Северном Ледовитом океанах. Таллом водоросли имеет вид крупного куста длиной до 1 м, с плоскими ветвями, средней жилкой, ровными или слегка волнистыми краями, дихотомически или неправильно разветвлёнными. Пузыри на талломе располагаются обычно парами. К субстрату водоросль крепится подошвой. Рецептакулы располагаются на концах ветвей и имеют круглую или овальную форму, могут быть простыми или вильчатыми. Водоросль является двудомной, рецептакулы однополые. В Баренцевом море обычно произрастает на верхнем и среднем горизонтах литорали. Фукус пузырьчатый обитает как в открытых, так и в закрытых местах, при океанической солёности и при сильном распреснении (до 10 ‰) [46, 72]. Продолжительность жизни растений составляет до 11–13 лет. Развитие рецептакул происходит с октября по январь. В январе начинают формироваться гаметангии. Массовый выход гамет происходит в июне, но завершается размножение у некоторых растений в августе-сентябре [41].



Рисунок 1.1 – *Fucus vesiculosus* на литорали (фото автора)

***Fucus distichus* Linnaeus 1767** – фукус двусторонний (рисунок 1.2). Относится к высокобореально-арктическим видам. Распространён в Атлантическом и Северном Ледовитом океанах. Таллом имеет вид крупных кустов до 80 см высотой, с плоскими узкими или широкими ветвями, со средней

жилкой, ровными краями и правильным дихотомическим ветвлением. Воздушные пузыри отсутствуют, но могут образовываться на талломе воздушные полости. Рецептатулы у фукуса двустороннего удлинённые цилиндрические, простые или вильчатые. Является однодомным растением, рецептатулы обоеполые. Морфологически очень изменчив. В Баренцевом море произрастает в разнообразных по абиотическим факторам местах на среднем горизонте литорали [72]. Продолжительность жизни водорослей в Баренцевом море составляет 8–9 лет. Образование рецептатул у *F. distichus* происходит в августе-октябре, а созревание и выход гамет фиксируется на следующий год в мае-июне. Завершается выход гамет к августу [41].



Рисунок 1.2 – *Fucus distichus* на литорали (фото автора)

***Fucus serratus* Linnaeus 1753** – фукус зубчатый (рисунок 1.3). Является высокобореально-арктическим видом, обитающим в Атлантическом и Северном Ледовитом океанах. Таллом в виде крупных кустов до 80 см высотой с плоскими широкими ветвями, чёткой средней жилкой, зубчатыми краями и дихотомическим ветвлением. Воздушные пузыри отсутствуют. Рецептатулы располагаются на верхушках ветвей и не ограничиваются от них. Водоросль является двудомным

растением с однополыми рецептакулами. В Баренцевом море произрастает на среднем и нижнем горизонтах литорали. Встречается в полузащищённых местах обитания [72]. Возраст *F. serratus* в северных морях России достигает 14 лет. Органы размножения у фукуса зубчатого формируются в течение 5–7 месяцев: закладка рецептакул происходит в мае-июне, а зрелости они достигают в конце августа. Рецептакулы у *F. serratus* сохраняют способность производить гаметы до лета следующего года [41].



Рисунок 1.3 – *Fucus serratus* на литорали (фото автора)

1.3 Адаптация водорослей к воздействию факторов среды

Адаптация к условиям окружающей среды является одним из фундаментальных свойств живых систем, которое проявляется на всех уровнях организации жизни [11]. Понятие адаптации можно рассматривать в двух аспектах: статическом и динамическом. Статическая адаптация – свойство биологической системы, её устойчивость к условиям среды, уровень приспособленности в данный момент. Динамическая адаптация – процесс приспособления биологической системы к меняющимся условиям среды, то есть изменение биосистемы во времени, обеспечивающее её жизнедеятельность в данных условиях [23].

В основе любой адаптации находятся изменения, происходящие на молекулярном уровне [68]. Самой важной чертой адаптации, которая отличает её от других процессов органического мира, является целесообразность. Адаптивные изменения всегда полезны и имеют приспособительное значение в данных конкретных условиях среды. Согласно Проссеру (C.L. Prosser), адаптация – это общий термин, обозначающий любое изменение или реакцию организма, способствующее его выживанию в изменившейся среде [11]. Адаптивные изменения повышают шансы не только отдельного организма, но и популяции или вида в борьбе за существование [66].

Адаптации бывают разные: биохимические, физиологические, анатомические, поведенческие и другие. Выделяют две основные группы адаптаций по их роли в эволюционном процессе и механизмам, лежащим в их основе: 1) генотипические (генетические), передаваемые организму по наследству и базирующиеся на «неопределённой изменчивости»; 2) фенотипические, не передаваемые по наследству [67].

Генотипический тип адаптации возможен только в результате мутации, что приводит к появлению у организма способности целесообразно реагировать на изменение окружающей среды. Этот тип адаптации представляет собой принципиальную основу эволюции.

Фенотипический тип адаптации уже предполагает наличие определённых механизмов, которые позволяют организму внешне адекватно изменять обмен веществ или считывание генетической информации при изменении условий окружающей среды. Организм реализует свои потенциальные возможности без изменения количества и качества имеющейся генетической информации, т.е. без изменения наследственности. В основе фенотипической адаптации лежит регуляция клеточного метаболизма в связи с изменением внешней среды под контролем генотипа [26]. Последний определяет норму реакции организма, которая реализуется в пределах, зависящих от характера воздействия фактора внешней среды. Основная ценность фенотипических адаптаций заключается в их обратимости.

Мутации являются основным механизмом закрепления новых признаков у организма. Необратимое изменение среды приводит к закреплению фенотипических изменений. Это закрепление осуществляется не как замещение модификаций аналогичными мутациями, а как неизбежный результат эволюции биосферы благодаря развитию сложных форм преемственности между поколениями. После прекращения воздействия эффекты в течение немногих поколений утрачиваются [25].

Любой организм способен жить в среде, условия которой изменяются лишь в определённых пределах. Минимальные и максимальные значения факторов, при которых ещё возможна жизнь данного вида, определяют нижнюю и верхнюю границы его толерантной зоны, его устойчивости к изменениям фактора. В пределах толерантной зоны колебания фактора не грозят организму гибелью. Пределы толерантной зоны обусловлены генетикой вида. За пределами зоны толерантности находится зона резистентности – зона действия летальных концентраций [11]. Согласно этому выделяют приспособления к умеренным воздействиям, т.е. зону толерантности, и адаптации к экстремальным дозам, т.е. зону резистентности. В зоне толерантности происходит частичное или полное восстановление метаболической активности на различных уровнях организации, тогда как в зоне резистентности подобной нормализации не происходит [58].

В пределах зоны толерантности работают механизмы физиологической адаптации, способствующие максимальному использованию генетического потенциала: метаболическая пластичность, изменение энзиматической активности.

В зоне резистентности весь организм работает не на нормализацию метаболизма, а на репарацию повреждений и увеличение времени жизни клеток при экстремальных изменениях условий среды [11].

Водоросли, как и другие биологические системы, адаптируются к условиям существования и возможным их изменениям. При этом у разных видов водорослей и на разные факторы среды формируются различные адаптации:

1. Адаптация к дефициту биогенных элементов.

К данному фактору у водорослей выявлены такие механизмы адаптации:

- за счёт резерва (накопления) биогенных элементов,
- за счёт изменения направленности биосинтеза.

Так осенью и зимой, когда концентрации азота в воде в избытке, макроводоросли (*Laminaria longicruris*, *Laminaria digitata*, *Ascophyllum nodosum*, *Palmaria palmata*, *Fucus vesiculosus*) накапливают его в своих тканях. В летний период, когда концентрация азота в воде низкая, накопленные запасы используются для обеспечения ростовых процессов [11, 108, 117, 228]. Летом, при максимальной интенсивности фотосинтеза, ламинария накапливает углерод в составе органических соединений, которые использует для своего роста осенью и ранней весной при низкой интенсивности фотосинтеза [11]. Водоросли также запасают фосфор, недостаток которого оказывает негативное влияние на скорость роста в летний период. Но благодаря внутренним запасам данного биогенного элемента *F. vesiculosus*, *A. nodosum* и *L. digitata* не испытывают недостатка в нём в период интенсивного роста [190]. Различные виды рода *Chlorella* в условиях азотного голодания накапливают липиды (до 60 %) или углеводы (до 85 %), а при достаточной концентрации азота – синтезируют до 50–60 % белков от сухой массы. Это говорит о высокой пластичности обмена у данной водоросли и её способности менять направленность биосинтеза в зависимости от условий среды [11].

2. Адаптация к температуре.

К данному фактору среды у водорослей выявлены такие механизмы адаптации, как:

- синтез катализаторов-ферментов, благодаря которым скорость биохимических реакций «подстраивается» под температуру окружающей среды;
- уровень конформационной гибкости белков изменяется в соответствии с температурой среды;
- изменение термочувствительности водорослей в пределах толерантной зоны, адекватное изменению окружающей среды;

- тепловая или холодовая закалка. Больше характерна для высших растений, но встречается и у водорослей;
- изменение концентрации и энергии активации ферментов;
- синтез веществ криопротекторов и белков теплового шока;
- полиморфизм популяции (наличие большого количества особей, отличающихся по терморезистентности) [11, 131, 148, 223].

Литоральные водоросли устойчивее к высоким и низким температурам по сравнению с сублиторальными. Водоросли, населяющие верхние горизонты литорали, более термоустойчивы, чем виды, произрастающие в нижних горизонтах литорали [9, 11, 148]. Теплоустойчивость некоторых литоральных видов водорослей повышается, если их содержать при более высокой температуре. Исследователи отмечают сезонные изменения температурной устойчивости фотосинтеза у морских растений: повышение холодоустойчивости у водорослей зимой, а теплоустойчивости летом. Водоросли не обладают постоянным уровнем температурной адаптивности, а способны адекватно настраивать её в ответ на изменение температуры среды [11].

3. Адаптация к интенсивности и спектральному составу освещения.

У водорослей выделяют следующие механизмы адаптации:

- изменение концентрации фотосинтетических пигментов;
- изменение размеров светособирающего комплекса фотосинтетического аппарата;
- перестройка активности ферментных систем и скорости энзиматических процессов, сопровождающаяся сохранением концентрации пигментов в клетке;
- перемещение хлоропластов в клетке;
- перестройка азотного и белкового обмена (в темновых условиях);
- изменение объёма клеток, изменение проницаемости мембраны тилакоидов;
- синтез соединений, защищающих от избыточного ультрафиолетового излучения (микоспорин-подобные аминокислоты, флоротаннины, фенольные соединения и др.);

- механизмы репарации ДНК и др. [11, 93, 101, 131, 148, 164].

В процессе адаптации к изменению световых условий фотосинтетический аппарат растения настраивается так, чтобы наиболее эффективно использовать световую энергию. Для каждого вида существует определённый интервал интенсивности освещения, в пределах которого возможна световая адаптация. Водоросли относятся к тенелюбивым видам, у которых насыщение фотосинтеза происходит при достаточно низкой интенсивности освещения. У разных видов световое насыщение наступает при различной интенсивности освещения [11, 93, 215]. В течение суток и в течение года с изменением интенсивности освещения происходит изменение величины светового насыщения у водорослей и изменение интенсивности фотосинтеза при световом насыщении.

Повышенная концентрация пигментов в холодное время года у водорослей является приспособлением не только к низкой интенсивности освещения, но и к пониженной температуре [11, 44].

4. Адаптация к изменению солёности.

Водоросли – это гиперосмотические организмы, у которых внутриклеточное осмотическое давление больше внешнего. Они способны выдерживать широкий диапазон осмотического давления среды [11, 48]. Причём водоросли, обитающие на литорали, в основном являются эвригалинными видами и могут выдерживать изменение солёности в широких пределах. Тогда как сублиторальные виды водорослей в большинстве случаев являются стеногалинными [148]. Солеустойчивость вида зависит от солёности среды обитания: чем ниже солёность обитания вида, тем более сильное опреснение он выдерживает [11, 48]. В клетках отдельных видов водорослей обнаружены суточные и сезонные колебания осмотического давления. Суточные колебания осмотического давления связывают, прежде всего, с изменением интенсивности фотосинтеза. Сезонные колебания осмотического давления зависят от превращения веществ, обусловленного изменениями температуры [11].

У водорослей имеются два специализированных механизма регуляции осмотического давления в соответствии с осмотическим давлением окружающей среды: метаболический и ионный.

Метаболический механизм регуляции внутриклеточного осмотического давления заключается в том, что при повышении осмотического давления окружающей среды характер процессов обмена у водорослей изменяется таким образом, что вместо обычных продуктов метаболизма они начинают синтезировать метаболически инертные, но обладающие ярко выраженным осмотическим действием соединения, такие, например, как глицерин, сахароза, изофлоридозид, пролин, маннит и другие соединения. При постепенном снижении осмотического давления окружающей среды происходит расщепление этих соединений до обычных продуктов метаболизма, которые затем используются водорослями в процессе метаболизма [11, 148, 166, 175]. Усиленный синтез маннита наблюдается при увеличении солёности у *Fucus* spp. и *A. nodosum* [11]. Аминокислота пролин является основным осмолитом у видов рода *Picochlorum*. У устойчивого к солям штамма зелёной водоросли *Chlamydomonas* spp. JSC4 при воздействии экстремального солевого стресса обнаружено значительное накопление липидов [131]. Антарктические зелёные водоросли содержат в качестве основных органических осмолитов сахарозу, пролин, б-диметилсульфониумпропионат (DMSP), а также полиолы (сорбитол, рибитол) [223]. Красные водоросли для поддержания осмотического давления в клетке синтезируют флоридозид и изофлоридозид [148].

Ионный механизм осморегуляции у водорослей заключается в том, что регуляция осмотического давления внутри клеток и приведение его в соответствие с осмотическим давлением окружающей среды осуществляется за счёт активного поглощения в основном ионов K^+ , что сопряжено с транспортом Na^+ в обратном направлении и с затратой энергии. Именно этот механизм имеет большое значение в ионной регуляции у водорослей [11, 131, 223].

У водорослей возможно одновременное существование и функционирование метаболического (медленного) и ионного (быстрого)

механизмов регуляции осмотического давления. Подобное было выявлено у водорослей рода *Dunaliella*, *Chlamydomonas*, *Fucus* [131, 176, 177].

5. Адаптация к осушению.

В приливно-отливной зоне водоросли, в зависимости от расположения на горизонте литорали и высоты прилива (сизигийный или квадратурный), подвергаются осушению разной длительности. Исследователи сходятся во мнении, что способность водорослей выдерживать значительные потери воды, а также способность к быстрой регидратации, являются основными механизмами адаптации водорослей к осушению [91]. Наиболее устойчивые к высыханию виды располагаются в верхней части литоральной зоны [148]. Чтобы выдерживать длительный период осушения у водорослей формируются такие адаптации как:

- малая удельная поверхность талломов, что физически препятствует быстрой потере влаги;
- образование слизи на поверхности талломов за счёт фикоколлоидов, способствующее сохранению влаги внутри клеток и тканей;
- изменение скорости и направленности физиологических процессов: фотосинтеза, абсорбции биогенных элементов, синтеза азотсодержащих соединений и катаболизм углеводов и т.д., что позволяет регулировать интенсивность метаболических процессов при недостатке влаги [115, 148].

Таким образом, у водорослей, как и других биологических систем, в процессе жизни формируются различные механизмы адаптации, которые способствуют выживанию в постоянно меняющихся условиях среды и обеспечивают устойчивость и приспособленность к изменению внешних факторов.

Участие в биохимической и физиологической адаптации водорослей к динамически меняющимся внешним условиям могут принимать различные группы веществ, в том числе и САК.

1.4 Свободные аминокислоты (САК): роль, функции, качественный состав, концентрация, распределение по таллому

Роль и функции САК в растительном организме. Аминокислоты – это органические соединения, содержащие карбоксильные и аминные группы, участвующие в разнообразных биохимических реакциях в организме. В природе встречаются главным образом α -аминокислоты, которые имеют L-конфигурацию. В живых организмах помимо аминокислот, входящих в состав белков и пептидов, содержится постоянный резерв САК [74].

Обычно в растениях в свободном состоянии можно обнаружить 20–30 аминокислот, состав и соотношение которых очень изменчивы и зависят от вида, возраста и стадии развития растений, участка растительного организма, условий окружающей среды, наличия биотического воздействия (патогенные микроорганизмы, травоядные животные) [7, 210]. Пул САК пополняется в результате их синтеза *de novo* или распада белков, уже «использованных» клеткой. Эти процессы дифференциально регулируются в ходе развития растительных клеток [7, 120]. Очевидно, что любые изменения, влияющие на метаболизм клетки, тут же отражаются на составе и соотношении САК [7].

Показано, что состав пула САК представлен протеиногенными и непротеиногенными аминокислотами и практически не отличается у различных групп водорослей [22, 95, 162, 213, 217].

Главная функция протеиногенных аминокислот заключается в построении белковых молекул. В этом процессе участвуют 20 аминокислот. В наибольшем количестве в водорослях содержатся моноаминодикарбоновые аминокислоты (глутаминовая и аспарагиновая аминокислоты) и их амиды (глутамин, аспарагин), а также аланин [95, 122, 123, 162, 187, 191, 213, 217, 222]. В значительном количестве водоросли могут содержать пролин, серин, треонин [22, 119, 122, 123, 125, 162, 213, 217]. Концентрации таких протеиногенных аминокислот как гистидин, триптофан, метионин оказываются наименьшими в общем пуле САК водорослей [22, 95, 119, 122, 123, 125, 162, 213, 217].

Помимо протеиногенных аминокислот растения синтезируют несколько сотен структурных производных, относящихся к непротеиногенным аминокислотам, которые не принимают непосредственного участия в синтезе белков, но входят в состав пула САК [7, 92]. В основном, непротеиногенные аминокислоты содержатся только в свободном состоянии или встречаются в составе коротких пептидов [7]. Они присутствуют в водорослях как в небольших количествах, так и могут составлять более половины всех свободных аминокислот [116, 125, 154, 183]. Обычно, непротеиногенные аминокислоты специфичны для определённой группы растений (семейство, род), но могут быть широко распространёнными, как например орнитин, гидроксипролин, таурин, цитруллин [7, 22, 76, 95, 122, 125, 160, 161, 213, 217]. Поэтому, именно непротеиногенные аминокислоты представляют уникальную особенность аминокислотного обмена у растений [65].

САК в растительном организме выполняют множество функций:

1. Участие в синтезе веществ.

Аминокислоты играют важную роль в метаболизме первичных и вторичных соединений в растительной клетке: витаминов, коферментов, пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, входящих в состав макроэргических молекул и нуклеиновых кислот, пигментов, бетаинов, аминсахаров, алкалоидов [7, 92], выступают как предшественники фитогормонов (ауксин, этилен). Некоторые безазотистые соединения, например, фенольные соединения, в растительном организме образуются из аминокислот (фенилаланин).

2. Участие в адаптации к неблагоприятным условиям среды, в том числе и как антиоксиданты.

Некоторые аминокислоты прямо или косвенно участвуют в формировании ответной реакции растений на действие различных абиотических факторов, а также на биотические стрессы (например, воздействие травоядных животных) [107]. При стрессе накапливаются пролин, аланин, аргинин, аспарагин, глутаминовая кислота, глутамин, глицин, лейцин, изолейцин, лизин,

фенилаланин, серин, треонин, тирозин, валин, γ -аминомасляная кислота и даже могут появляться D-аминокислоты [7, 78, 80, 100, 210, 218].

САК в клетках растений проявляют антиоксидантный эффект, участвуют в регулировании осмотического потенциала клетки при солевом стрессе [40, 210], выполняют криопротекторную функцию [70, 210]. Аминокислоты участвуют в нейтрализации аммония при повышении его концентрации внутри клеток [192].

Глутаминовая кислота, глутамин, гистидин, цистеин, метионин, глицин, пролин, аспарагин, аланин, аргинин участвуют в связывании, а некоторые и в транспортировке ионов тяжёлых металлов в растительном организме [133, 141, 142, 189, 209, 224, 226].

Аминокислоты являются предшественниками вторичных метаболитов растений, защищающих от поедания насекомыми (глюкозинолатов) [229].

3. Участие в регуляции метаболизма.

Отдельные аминокислоты могут фактически действовать как сигнальные молекулы [150]. Было показано, что глутаминовая кислота, добавленная в среду для роста растений, изменяет экспрессию генов, кодирующих ферменты, которые участвуют в метаболизме аминокислот [149, 150, 186].

4. Участие в запасании веществ.

САК могут выступать в роли запасных форм азота в растениях и использоваться для синтеза белков или иных азотсодержащих соединений при дефиците данного биогенного элемента в окружающей среде [84, 154, 169, 181, 222]. Также в водорослях САК (аланин, глицин, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, серин, цитруллин) используются в качестве транспортной формы азота [98, 188, 201, 202, 204].

5. САК как компонент метаболома.

Поскольку аминокислоты участвуют во многих метаболических процессах, являются предшественниками различных веществ, могут накапливаться в качестве запасной формы азота, то изменения в их содержании и соотношении могут свидетельствовать об особенностях или отклонениях в метаболизме растений. При наличии сведений о закономерностях изменения аминокислот

(концентрации и соотношения САК) в зависимости от фазы развития растения, изменения внешних факторов среды, антропогенного или биотического воздействия можно судить о состоянии растительного организма или условиях среды, в которых он произрастает.

Качественный состав, концентрация САК у водорослей и их распределение по таллому. Концентрация САК у водорослей варьирует в очень широких пределах. Показано, что у бурых и красных водорослей концентрация САК может достигать значений в 85–90 и 91–97 мг·г⁻¹ сухой массы соответственно, тогда как у зелёных водорослей данный показатель не превышает 7,3 мг·г⁻¹ сухой массы (таблица 1.1).

Таблица 1.1 – Концентрация САК у различных видов водорослей, мг·г⁻¹ сухой массы. По литературным данным.

Порядок, семейство, род или вид	Район сбора	Сезон сбора	Концентрация САК	Источник
1	2	3	4	5
Бурые водоросли				
<i>Alaria esculenta</i>	северное побережье Норвегии	май, июнь 2010, 2012	15,50	[161]
	южное побережье Исландии	нет данных	10,70	[162]
<i>Costaria costata</i>	бухты Находка и Рифовая залива Петра Великого, Японское море	май 2012, 2013	90,32	[213]
<i>Cystoseira barbata</i>	северное побережье Египта, Средиземное море	нет данных	1,57	[182]
<i>Dictyota dichotoma</i>	северное побережье Египта, Средиземное море	нет данных	1,23	[182]
<i>Fucus vesiculosus</i>	северное побережье Норвегии	май, июнь 2010, 2012	6,80	[161]
<i>Laminaria digitata</i>	северное побережье Норвегии	май, июнь 2010, 2012	4,90	[161]
<i>Laminaria hyperborea</i>	северное побережье Норвегии	май, июнь 2010, 2012	5,30	[161]
<i>Saccharina japonica</i> (<i>Laminaria japonica</i>)	побережье Японии	нет данных	23,57	[125]
<i>Pelvetia canaliculata</i>	северное побережье Норвегии	май, июнь 2010, 2012	3,50	[161]
<i>Sargassum linifolium</i>	северное побережье Египта, Средиземное море	нет данных	0,70	[182]
<i>Undaria pinnatifida</i>	бухты Находка и Рифовая залива Петра Великого, Японское море	май 2012, 2013	78,23	[213]
	побережье Японии	нет данных	15,91	[125]
Разные виды	побережье Камчатки, Россия	нет данных	до 85,00	[34]

Продолжение таблицы 1.1

1	2	3	4	5
Красные водоросли				
<i>Acanthophora delilei</i>	западное побережье Индии, Аравийское море	нет данных	1,84	[152]
<i>Champia somalensis</i>	западное побережье Индии, Аравийское море	нет данных	2,81	[152]
<i>Chondrus ocellatus</i>	побережье Камчатки, Россия	апрель	12,40—16,30	[34]
	побережье Камчатки, Россия	июль	2,00—3,50	[34]
<i>Gracilaria compressa</i>	побережье Японии	нет данных	1,76*	[125]
<i>Gracilaria confervoides</i>	северное побережье Египта, Средиземное море	нет данных	2,74	[182]
<i>Grateloupia indica</i>	западное побережье Индии, Аравийское море	нет данных	0,34	[152]
<i>Grateloupia filicina</i>	западное побережье Индии, Аравийское море	нет данных	6,15	[152]
<i>Hypnea musciformis</i>	северное побережье Египта, Средиземное море	нет данных	3,25	[182]
	западное побережье Индии, Аравийское море	нет данных	4,58	[152]
Palmariales (<i>Palmaria stenogona</i> , <i>Palmaria mollis</i> , <i>Halosaccion firmum</i>)	Авачинский залив, восточное побережье Камчатки, Россия	июль 2010	91,00—97,00	[22]
<i>Palmaria palmata</i>	северное побережье Норвегии	май, июнь 2010, 2012	16,20	[161]
	южное побережье Исландии	нет данных	12,00	[162]
<i>Porphyra</i> spp,	побережье Японии	нет данных	52,59	[125]
<i>Pterocladia capillacea</i>	северное побережье Египта, Средиземное море	нет данных	5,48	[182]
<i>Rhodomenia intricata</i>	побережье Японии	нет данных	1,93*	[125]
<i>Sarconema furcellatum</i>	западное побережье Индии, Аравийское море	нет данных	3,50	[152]
<i>Sarconema scinaoides</i>	западное побережье Индии, Аравийское море	нет данных	11,22	[152]
<i>Spyridia insignis</i>	западное побережье Индии, Аравийское море	нет данных	3,49	[152]
<i>Vertebrata lanosa</i>	северное побережье Норвегии	май, июнь 2010, 2012	10,80	[161]
Разные виды	побережье Камчатки, Россия	нет данных	до 36,00	[34]
Зелёные водоросли				
<i>Cladophora rupestris</i>	северное побережье Норвегии	май, июнь 2010, 2012	1,30	[161]
<i>Codium decorticatum</i>	северное побережье Египта, Средиземное море	нет данных	2,76	[182]
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	северное побережье Египта, Средиземное море	нет данных	1,35	[182]
	северное побережье Норвегии	май, июнь 2010, 2012	6,20	[161]
<i>Enteromorpha linza</i>	побережье Японии	нет данных	3,30	[125]
	западное побережье Индии, Аравийское море	нет данных	7,29	[152]
<i>Spongomorpha saxatilis</i>	западное побережье Индии, Аравийское море	нет данных	1,11	[152]

Продолжение таблицы 1.1

1	2	3	4	5
<i>Ulva lactuca</i>	северное побережье Норвегии	май, июнь 2010, 2012	1,90	[161]
<i>Ulva lactuca</i>	северное побережье Египта, Средиземное море	нет данных	0,62	[182]
<i>Ulva lactuca</i> var. <i>latissima</i>	западное побережье Индии, Аравийское море	нет данных	7,10	[152]
<i>Ulva pertusa</i>	побережье Японии	нет данных	3,27	[125]
Разные виды	побережье Камчатки, Россия	нет данных	до 4,00	[34]

Примечание – * – концентрация представлена в виде мг·г⁻¹ сырой массы водорослей

Для многих макрофитов, в частности со сложным строением таллома, также как и для высших растений, характерен транспорт веществ от места синтеза к месту их использования или запасаения [97, 112, 156, 194, 203]. В результате разной скорости метаболизма и транспорта может формироваться неравномерное распределение веществ, в том числе и САК, в талломе. Так у бурых водорослей *Sargassum fusiforme*, *Saccharina japonica* (*Laminaria japonica*), *Macrocystis pyrifera*, *F. vesiculosus* и антарктической водоросли *Ascoseira mirabilis* были выявлены различия в содержании САК в разных участках таллома [57, 85, 109, 111, 179, 222]. А у *Laminaria hyperborea* (*Laminaria cloustonii*) с атлантического побережья Великобритании в июле пластина и ствол не отличались по концентрации САК [87].

Концентрация САК определяется не только физиологическими особенностями вида, но также зависит от комплекса абиотических факторов (например, солёности, температуры и др.), действующих в месте обитания водорослей.

Немаловажным фактором, который влияет на концентрацию САК в клетках, является доступность биогенных элементов в среде обитания, в частности, соединений азота.

Концентрация азотистых соединений в среде в течение года значительно меняется, а потребности водорослей в нём зависят от фазы развития. При высоких концентрациях в среде соединений азота (зима и ранняя весна) и при интенсивном росте меристематические и средние участки таллома водорослей содержат больше САК, чем ризоиды или участки сильно удалённые от растущей

части таллома [57, 85, 111, 222]. В периоды когда рост водорослей снижен, различия в концентрации САК между участками таллома могут отсутствовать [111]. Различия могут касаться не только суммы САК, но и отдельных аминокислот. Так у *Sargassum fusiforme* D-аспарагиновая кислота содержится в больших концентрациях только в основании таллома, тогда как у *Macrocystis pyrifera* аспарагиновая кислота превалирует в базальных частях, а в апикальных содержится больше глутаминовой кислоты [179, 222]. В период размножения концентрация аминокислот повышается в участках таллома, где происходит формирование спор или гамет [57, 179].

1.5 Влияние абиотических факторов на качественный состав и концентрацию САК у водорослей

В природных условиях абиотические факторы оказывают совместное влияние, и выявить действие одного из них достаточно сложно. При этом ограничивающее действие будет оказывать фактор, величина воздействия которого выходит за пределы оптимума. Именно он будет способен усиливать или ослаблять влияние других факторов.

На скорость и направленность метаболических процессов, в том числе и на качественный состав и концентрацию САК у водорослей, влияет множество факторов внешней среды, но одними из основных являются интенсивность освещения, температура, солёность и доступность биогенных элементов. Для водорослей, обитающих в литоральной зоне, значимым фактором является ещё и осушение в период отлива.

Интенсивность и продолжительность освещения. Поскольку водоросли являются фотоавтотрофными организмами, то свет — это один из главных факторов, определяющих их существование. Фактор света складывается из нескольких компонентов: качественного (спектральный состав) и количественного (интенсивность и продолжительность освещения).

Интенсивность и продолжительность освещения определяет количество энергии, получаемое водорослями и преобразуемое потом в органические

соединения, в том числе и САК. При этом оптимальные и критические режимы освещения, которые приводят к изменению синтеза САК, являются видоспецифичным признаком.

Так у зелёной водоросли *Caulerpa prolifera* максимальная концентрация САК наблюдалась при интенсивности света 700 люкс и фотопериодом 16 ч свет и 8 ч темнота. Повышение интенсивности света с 700 до 1500 люкс сопровождалось постепенным снижением концентрации свободных и увеличением концентрации связанных аминокислот. Дальнейшее увеличение интенсивности света (до 2500 и 3500 люкс) приводило к росту концентрации свободных и одновременно к снижению связанных аминокислот. Например, минимальная концентрация свободной глутаминовой кислоты и треонина отмечалась при интенсивности освещения 2500 люкс [135].

У зелёной водоросли *Ulva fasciata* максимальная концентрация САК наблюдалась при 2500 люкс, что соответствовало оптимальной интенсивности освещения для роста данной водоросли. Понижение интенсивности освещения до 1500 люкс или повышение свыше 2500 люкс (до 3500 люкс) вызывало снижение концентрации САК. Наиболее чувствительными к изменению интенсивности освещения у *U. fasciata* оказались лейцин, валин, аланин и глутаминовая кислота, по сравнению с остальными САК [170].

Изменения концентрации САК в зависимости от интенсивности освещения связывают со скоростью их синтеза и катаболизма. При недостаточном количестве энергии скорость синтеза белков и пептидов может замедляться, что, в свою очередь, приводит к накоплению САК. Избыток световой энергии приводит к снижению скорости фотосинтеза, что также приводит к недостатку энергии для синтеза белков и пептидов [135, 170].

Синтез и накопление ряда аминокислот является светозависимым процессом. Так у *Laminaria hyperborea* синтез серина, глицина, аланина и аспарагиновой кислоты происходили и на свету и в темноте, а вот синтез и накопление глутаминовой кислоты были зарегистрированы только в темноте [225]. У красной водоросли *Gracilaria tikvahiae* при подкормке аммонийными

удобрениями спустя 24 часа концентрация САК была выше у образцов, находящихся в темноте, чем на свету [84]. Во время экспоненциального роста у одноклеточной водоросли *Isochrysis galbana* при непрерывном освещении накапливалось в 2 раза больше САК, чем при режиме свет:темнота=12:12 [104]. Синтез пролина у диатомовой водоросли *Phaeodactylum tricornutum* из неорганических ионов (аммоний, нитраты) в темноте не поддерживался, а из глутаминовой кислоты происходил, но в течение ограниченного времени [206].

Температура. Температура, как и свет, оказывает влияние на процесс фотосинтеза и другие метаболические процессы водорослей, регулируя работу ферментов. Температурное воздействие на концентрацию САК у разных видов водорослей будет зависеть от диапазона оптимальных для их роста температур и особенностей их реакции на экстремальные температурные режимы.

При выращивании красной водоросли *Gracilaria secundata* при 25 °С и 13 °С температура не оказала влияния на качественный состав и концентрацию САК, но существенно повлияла на уровень белка у водорослей [154].

У зелёной водоросли *Ulva fasciata* температура от 20 °С до 25 °С считается наиболее оптимальной для роста. При этой температуре в ней синтезировалось и накапливалось в 2–3 раза больше САК, чем при выращивании при 15 °С или 30 °С [170].

Для близкородственного вида *Ulva pertusa* выращивание при температуре 20 °С также является более благоприятным, однако накопление САК отмечалось при температуре 30 °С и было в 2,2 раза выше, чем при 20 °С. Особенно сильно повышалась концентрация аспарагиновой кислоты, аспарагина, глутаминовой кислоты, глутамина, глицина и серина, что может быть связано с развитием теплового стресса у водоросли [128].

У высших растений наблюдается накопление пролина, серина, глицина, глутамина, аланина и аспарагина в ответ на низкие температуры. Ряд исследований продемонстрировали положительную корреляцию между концентрацией САК и морозоустойчивостью высших растений [210].

У антарктической диатомовой водоросли *Flagilariopsis cylindrus* в условиях повышенной солёности внутриклеточное увеличение концентрации пролина происходило быстрее при отрицательной температуре (минус 4 °C), чем при 0 °C. Пониженная температура оказалась лучше для выживания водоросли, поскольку замедляла протекание вредных процессов, влияющих на экспрессию генов [144].

Не только сама температура, но и её колебания могут оказывать воздействие на биохимический состав водорослей. При колебаниях температуры от 8 °C до 10 °C у зелёной водоросли *Ulva pertusa* концентрация свободного пролина увеличивалась, по сравнению с постоянной оптимальной температурой 20 °C. Авторы исследования пришли к выводу, что столь сильные температурные колебания являлись стрессом для водоросли, приводящим к повышению уровня пролина, как ответной защитной реакции [220].

Солёность. Изменение солёности является одним из важных факторов, регулирующих жизнедеятельность, как наземных растений, так и водных, в том числе и водорослей.

Для наземных растений наиболее значимым является повышение солёности, которое оказывает отрицательное влияние на рост и метаболизм из-за осмотического действия солей, дисбаланса в содержании различных ионов, а также токсического воздействия ионов. Растения способны противодействовать засолению, накапливая неорганические или органические растворимые соединения. Неорганические ионы накапливаются в вакуоли, а органические вещества в цитоплазме для уравнивания вакуолярного осмотического потенциала. Среди органических осмолитов, которые накапливаются в растениях в условиях засоления, азотистые соединения, органические кислоты, сахара и полиолы являются доминирующими [166]. Азотсодержащие вещества включают аминокислоты, амиды, амины, иминокислоты, бетаины (таких как глицин бетаин и β-аланин бетаин), полиамины и белки [166, 210]. Накопление аминокислот при засолении было показано, как для гликофитов, так и для галофитов. Гликофиты, как правило, накапливают больше пролина под воздействием солей, чем галофиты [166, 210]. Среди САК повышалась концентрация пролина, аргинина,

аланина, глицина, серина, лейцина, валина, цитруллина и орнитина [166]. Как правило, у видов, накапливающих пролин в природных условиях, с повышением солёности внешней среды его концентрация возрастает. У высших растений при засолении наблюдается повышение концентрации амидов (аспарагина и глутамина), аминокислот и иминокислот, особенно у видов, накапливающих пролин [210]. При этом концентрация накопленного пролина при воздействии повышенных концентраций соли зависит от устойчивости растений к солевому воздействию.

Повышение количества амидов, аминокислот и иминокислот происходит в ответ на повышение солёности не только у высших растений, но и у эвригалинных и морских одноклеточных водорослей. Водоросли *Cyclotella mereghiniana*, *Cyclotella cryptica*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Stichococcus bacillaris*, *Brachiomonas submarina*, *Chaetoceros muelleri*, *Flagilariopsis cylindrus* накапливают пролин, а также глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту, аланин при повышении солёности [75, 86, 105, 144, 155, 205, 206].

Повышение солёности воды вызывает изменения в концентрации САК и у многоклеточных водорослей. При этом наблюдается как повышение концентрации одних аминокислот, так и снижение других. У зелёной водоросли *Ulva pertusa* при краткосрочном нахождении при повышенной солёности (59,6 ‰, 24 часа) пул САК повышался незначительно, но заметно увеличивалась концентрация пролина (в 14,4 раза), а концентрации аспарагиновой и глутаминовой кислот снижались. При более длительном пребывании при повышенной солёности (120 часов) пул САК снижался (в 4,5 раза), но сохранялась повышенная концентрация пролина (в 4,7 раза) [128]. При этом увеличение солёности морской воды за счёт её концентрирования в 2 раза (до 60 ‰) не влияло на концентрацию свободного пролина у *Ulva fasciata* и *Ulva lactuca* [96, 151].

У красной водоросли *Gracilaria corticata* повышение солёности приводило к 2-кратному увеличению концентрации пролина, у литоральной зелёной водоросли *Cladophora vagabunda* отмечался быстрый рост концентрации аспарагиновой

кислоты, глутаминовой кислоты, глицина, гистидина, лизина и аргинина [145, 193]. При повышении солёности за счёт хлорида натрия до 93 ‰ у бурой водоросли *Ectocarpus siliculosus* концентрация преобладающих аминокислот (аланина, глутамина, глутаминовой и аспарагиновой кислот) снижалась, но при этом повышались концентрации ароматических аминокислот, аминокислот с разветвлённой боковой цепью, треонина и особенно сильно пролина и аргинина [99]. У морской красной водоросли *Polysiphonia lanosa* повышение солёности воды в 1,5–2,0 раза приводило к небольшому повышению концентрации САК [195].

Морские эвригалинные водоросли, в отличие от наземных растений, чаще испытывают понижение солёности воды, особенно это касается водорослей литоральной зоны.

Снижение солёности вызывало понижение концентрации как пролина, так и суммы всех САК у зелёной одноклеточной водоросли *Brachiomonas submarina* [75], у диатомовой водоросли *Cyclotella cryptica*, у одноклеточной красной водоросли *Porphyridium purpureum* [110, 155]. У диатомовой водоросли *Cyclotella mereghiniana* при пониженной солёности, напротив, концентрация пролина сохранялась высокой, по сравнению с контролем [205].

У зелёной водоросли *Ulva pertusa* нахождение в распреснённой морской воде (7 ‰) приводило к снижению концентрации пролина и аспарагина, причём пониженная концентрация пролина сохранялась продолжительный период времени (120 часов воздействия) [128]. У красной водоросли *Gracilaria corticata* снижение солёности воды до 15 ‰ вызывало повышение концентрации пролина в 2 раза, а у зелёной водоросли *Cladophora vagabunda* при солёности воды 10 ‰ – снижение концентрации аспарагиновой кислоты, треонина, глицина, валина, гистидина и аргинина, и быстрое увеличение концентрации глутаминовой кислоты и лизина [145, 193]. При пониженной солёности (4 ‰) у *Ectocarpus siliculosus* сильно уменьшалась концентрация преобладающих аминокислот (аланина, глутамина, глутаминовой и аспарагиновой кислот), но повышались концентрации ароматических аминокислот (тирозин, фенилаланин),

аминокислот с разветвлённой боковой цепью (лейцина, изолейцина, валина) и треонина [99]. Концентрация пролина снижалась в 2 раза у литоральной *Piropia haitanensis* при нахождении в течение 4 часов при солёности 0–5 ‰ [219]. В сильно разбавленной морской воде (до 0,7–7,0 ‰) концентрация САК у морской красной водоросли *Polysiphonia lanosa* понижалась практически до нуля [195].

1.6 Сезонные изменения качественного состава и концентрации САК у водорослей

Каждый сезон года сопровождается изменением параметров окружающей среды, оказывающих влияние на водоросли: температуры, фотопериода, интенсивности освещения, гидродинамического и гидрохимического режима, солёности, ледового режима. Для большинства водорослей, обитающих в арктической и бореальной зонах, наиболее благоприятным для роста и развития является весенне-летний период, а период покоя приходится на осень и зиму.

В зависимости от сезона года меняется и биохимический состав водорослей, в том числе качественный состав и концентрация САК. У беломорских фукусовых водорослей (*Fucus vesiculosus*, *Ascophyllum nodosum*) сезонные изменения концентрации САК повторяют динамику накопления белка – с высокой концентрацией весной и в начале лета и низкой осенью. Основные изменения происходят за счёт динамики глутаминовой и аспарагиновой кислот [59]. Например, для водорослей рода *Porphyra*, произрастающих на плантации в префектуре Хиого (Япония), характерны более высокие значения концентрации суммы САК и отдельно аланина весной со значительным снижением концентрации к декабрю. Изменения других САК (глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, таурина) в течение года незначительные [116]. У красной водоросли *Gracilaria vermiculophylla* с побережья Франции динамика таурина схожа с изменением концентрации САК у водорослей рода *Porphyra* с побережья Японии: наибольшие концентрации фиксируются в марте, а наименьшие – в сентябре [211]. В слоевище дальневосточной *Saccharina japonica* весной происходит накопление азотистых веществ, в том числе и САК. К июню-июлю их

концентрация достигает наибольших значений за год. Осенью концентрация САК у *S. japonica* снижается, и в ноябре наблюдаются наименьшие значения. Разница в концентрации САК в течение года составляет 10 раз [38, 57]. У тихоокеанских бурых водорослей *Macrocystis integrifolia* и *Nereocystis luetkeana*, в целом концентрация САК низкая, по сравнению со связанными аминокислотами, не выявлено чётких сезонных колебаний за исключением пролина. Его концентрация оказывается более высокой в летний период [196]. Концентрация САК у антарктической бурой водоросли *Ascoseira mirabilis* в 2 раза выше в октябре-ноябре (весна в южном полушарии) по сравнению с декабрём и февралём (лето) [111].

У бурой водоросли *Sargassum fusiforme* динамика накопления d-аспарагиновой кислоты противоположна накоплению САК у рассмотренных выше видов: её концентрация возрастает в октябре и остаётся высокой до марта, а низкие концентрации определяются с мая по сентябрь [179]. Максимальная концентрация САК у зелёных водорослей *Caulerpa prolifera* и *Ulva intestinalis* (*Enteromorpha intestinalis*), а также у красной водоросли *Laurencia papillosa* и бурой водоросли *Cystoseira barbata* с южного побережья Средиземного моря наблюдается в осенний и зимний периоды. А летом она снижается не более чем в 2 раза и достигает минимальных значений за год [134, 171]. У *Palmaria palmata*, произрастающей на побережье Новой Шотландии, высокие концентрации САК выявлены в зимний период [173].

Таким образом, для большинства водорослей, как и для наземных растений, характерны сезонные изменения концентрации САК, однако характер выявленной динамики у разных видов может различаться.

1.7 Качественный состав и концентрация САК у водорослей в разные фазы жизненного цикла

Разные виды водорослей, произрастающие в одном и том же месте, могут показывать совершенно противоположную сезонную динамику САК. Так у *Laminaria digitata*, *Pelvetia canaliculata* и *Fucus vesiculosus* с западного побережья

Шотландии концентрация аланина повышается в конце лета, а у *Ascophyllum nodosum* и *Fucus spiralis* из этого же региона – наоборот снижается [191]. У дальневосточной *Saccharina japonica* концентрация САК в июле в 2,5–3,0 раза выше, чем в апреле, а у произрастающего там же *Chondrus ocellatus*, наоборот, к июлю снижается в 5–6 раз по сравнению с апрелем [34]. Для красных водорослей рода *Gracilaria*, водорослей *Chondrus crispus*, *Fucus spiralis*, *Undaria pinnatifida* и *Ulva* spp. с северо-центрального побережья Португалии более высокие концентрации САК характерны для осеннего периода и обусловлены увеличением треонина, аланана, глицина, тирозина, глутаминовой кислоты, глутамина, лизина, пролина. У *Osmundea pinnatifida*, *Porphyra* spp., *Ascophyllum nodosum* и *Sacchorhiza polyschides* из этого же места произрастания концентрация САК не зависит от сезона, но отмечаются колебания отдельных аминокислот [217].

Описанные выше различия могут быть обусловлены особенностями жизненного цикла водорослей, который в большой степени регулируется факторами внешней среды. Наступление фазы роста или размножения, как наиболее активных и важных в жизненном цикле любого растения, будет синхронизировано с благоприятным периодом года. Поэтому сезонную динамику концентрации САК у водорослей можно рассматривать как показатель физиологического состояния и репродуктивной способности водорослей.

Для зелёных водорослей *Caulerpa prolifera* и *Ulva intestinalis*, а также у красной водоросли *Laurencia papillosa* и бурых водорослей *Cystoseira barbata* и *Sargassum fusiforme* во время прорастания и в период интенсивного роста концентрация САК низкая [134, 171, 179]. У беломорских фукусовых водорослей, дальневосточной *Saccharina japonica*, антарктической *Ascoseira mirabilis* концентрация САК в период интенсивного роста наоборот более высокая [57, 59, 111]. Возможно, что различия в количественном содержании САК у водорослей связаны с доступностью азота в среде в период интенсивного роста.

В период размножения концентрация САК у водорослей с южного побережья Средиземного моря возрастает и практически в 2 раза превышает

концентрацию связанных аминокислот [172]. У *Saccharina japonica* с Дальнего Востока России толчком к спороношению также является увеличение концентрации САК в центральной части пластины. Наибольшее значение имеет концентрация глутаминовой кислоты, которая должна составлять 25–28 мг·г⁻¹ сухой массы для начала формирования спороносного пятна [38, 57]. Накопление САК в период размножения или до него, скорее всего, обусловлено использованием этих соединений как структурных компонентов для построения белков и пептидов в процессе роста и развития спор и гамет.

В заключение можно сказать, что сезонные изменения концентрации САК у водорослей обусловлены воздействием факторов внешней среды, которые регулируют, в том числе, и наступление той или иной фазы развития организма.

1.8 Суточные изменения качественного состава и концентрации САК у водорослей

У организмов присутствуют ритмы физиологической активности и биохимических параметров. Считается, что организмы, обладающие циркадными ритмами, обитая в среде с постоянно меняющимися внешними условиями, имеют большее преимущество в выживании, так как за счёт циклических изменений физиологической активности эти организмы более адаптированы и синхронизированы с изменяющимися условиями среды [209].

У растений выявлены суточные колебания физиологических и биохимических параметров, таких как интенсивность фотосинтеза, водный потенциал, концентрация азотистых соединений, активность ферментов, экспрессия генов и др. [82, 106, 167, 197]. Суточные колебания метаболической активности у наземных растений связывают с изменением параметров среды: интенсивности солнечного излучения, температуры, влажности воздуха и почвы. Для водорослей, произрастающих в литоральной зоне, имеет значение не только смена времени суток, как для наземных растений, но и фаза приливо-отливного цикла. Два раза в сутки на побережье Баренцева моря наблюдаются приливы и

отливы, что приводит к регулярным изменениям параметров среды для литоральных водорослей. С наступлением отлива или прилива меняется освещённость, температура, солёность, доступность необходимых для жизни веществ и воды. Это влечёт за собой изменения скорости и направленности физиологических процессов у водорослей.

Для водорослей, как водных организмов, водная среда для протекания различных метаболических процессов является более благоприятной, чем воздушная. Хотя для некоторых видов ежедневное осушение в период отлива это необходимое условие для существования, как, например, для *Pelvetia canaliculata* [207].

В литературе представлено небольшое количество работ, посвящённых суточным изменениям физиолого-биохимических параметров водорослей. Выявлено присутствие световой зависимости периодов митотического деления клеток и их роста у бурых, красных и зелёных водорослей. Деление клеток происходит в основном в тёмное время суток, а их рост приходится на утренние часы. В дневное время клеточная активность направлена в основном на фотосинтез [159, 165, 214]. У исследуемого вида водорослей *F. vesiculosus* были определены суточные изменения метаболической активности [197], фотосинтетической активности, содержания воды в талломе, активности каталазы и уровня перекисного окисления липидов [198]. Все эти процессы, включая деление и рост клеток, влияют напрямую или косвенно на метаболизм САК, тем самым определяя их концентрацию в клетках водорослей.

Исследования суточных изменений САК у водорослей в научной литературе не обнаружены.

У высших наземных растений показаны значительные изменения САК в течение суток: общая концентрация САК изменяется в зависимости от сезона (незначительно осенью и значительно летом), а концентрации отдельных аминокислот претерпевают значительные изменения. Максимальное накопление большинства САК в хвое наблюдается вечером и ночью в осенний период и днём и ночью летом [69]. Для листьев гороха и сои определено, что сумма САК, а

также большинство отдельных составляющих пул аминокислот, увеличивались в дневное время. Но концентрация аспарагиновой кислоты, гомосерина и γ -аминомасляной кислоты повышалась ночью [82, 106]. Увеличение концентрации САК в листьях высших растений в дневное время связывают с влиянием света: свет усиливает транспирацию и тем самым способствует поступлению нитратов и органического азота в листья. Также свет предоставляет необходимую энергию для ассимиляции неорганического азота в аминокислоты. Зависимость концентрации некоторых аминокислот от интенсивности фотосинтетически активной радиации связана с образованием их предшественников как первичных продуктов фотосинтеза (пируват для аланина, гликолят для глицина, глицин для серина). В светлое время суток повышается активность ферментов, участвующих в восстановлении соединений азота и его включении в состав аминокислот (нитратредуктаза, глутаминсинтетаза, глутаматсинтетаза) [82, 106]. Повышение концентрации некоторых аминокислот в вечернее и ночное время объясняли снижением интенсивности их использования в это время суток [69, 106]. Значительное увеличение концентрации САК после полудня при водном стрессе в листьях сои было вызвано протеолизом белков и медленным катаболизмом образующихся аминокислот [106]. Накопление аргинина в хвое в ночное время связано с его усиленным синтезом в орнитиновом цикле [69].

Изменение интенсивности освещения в течение суток также будет оказывать влияние на концентрацию САК у водорослей. Но помимо этого на водоросли, обитающие в литоральной зоне, будет оказывать влияние и смена фаз приливо-отливного цикла. Проведённые на различных макроводорослях эксперименты показали, что осушение водорослей во время отлива негативно влияет на интенсивность их фотосинтеза и активность нитратредуктазы. По мере высыхания концентрация активных форм кислорода и перекисное окисление липидов в клетках водорослей увеличивались, возрастала концентрация белковых пигментов, аскорбиновой кислоты и её окисленной формы, повышалась концентрация полиаминов и глутатиона. Нахождение водорослей в воздушной среде приводило к синтезу защитных белков и ферментов, участвующих в биосинтезе антиоксидантных соединений и аминокислот [115, 146, 157, 227].

Концентрация неорганических форм азота у водорослей в отлив снижалось [227]. У *Ulva lactuca* высыхание в течение 24 часов приводило к увеличению концентрации аминокислот, метаболитов ферментативного пути и антиоксидантов, но к снижению сахаров. Осушение вызывало переключение направления метаболических путей с углеводного обмена на азотный: запасы углеводов интенсивно расходовались, а концентрации соединений с аминогруппой повышались [115].

Исходя из всего перечисленного, суточные изменения параметров среды оказывают влияние на метаболическую активность и биохимический состав как высших растений, так и водорослей. Но для литоральных водорослей метаболические и биохимические изменения в течение суток будут зависеть ещё и от времени наступления и продолжительности отливов.

Находясь во взаимосвязи с фотосинтезом, который поставляет энергию и углеродные скелеты, процессами деления и роста, на которые приходится расход аминокислот в качестве строительных единиц, очевидно, что концентрация САК у *F. vesiculosus* будет варьировать в течение суток.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнялась на базе лаборатории альгологии Мурманского морского биологического института РАН и научно-исследовательской лаборатории «Мониторинг и сохранение природных экосистем Арктики» ФГБОУ ВО «Мурманский арктический университет». Район исследования включает губы и бухты Мурманского побережья Баренцева моря: бухта Девкина Заводь (губа Печенга), губа Ура, район Абрам-мыса, губа Белокаменная, губа Лодейная, губа Корабельная, губа Оскара (рисунок 2.1).



Рисунок 2.1 – Карта-схема расположения станций сбора водорослей: 1 – бухта Девкина Заводь (губа Печенга); 2 – губа Ура; 3 – район Абрам-мыса (Кольский залив); 4 – губа Белокаменная (Кольский залив); 5 – губа Лодейная (западный берег губы Териберская); 6 – губа Корабельная (восточный берег губы Териберская); 7 – губа Оскара (юго-западная часть губы Зеленецкая)

2.1 Гидролого-гидрохимическая характеристика мест отбора проб

Бухта Девкина Заводь ($69^{\circ}38,3' \text{ N}$, $31^{\circ}22,5' \text{ E}$) располагается на западном берегу губы Печенга (рисунок 2.2). Грунт в бухте глинистый, а на западном берегу мелко каменистый [43]. Температура поверхностных вод в губе меняется существенно в течение года в полном соответствии с климатическими сезонами: она минимальна в зимние месяцы (1°C), с апреля начинает повышаться ($1,4\text{--}1,6^{\circ}\text{C}$), достигая максимума в июле-августе (до 11°C), затем вновь понижается. Солёность воды на поверхности губы максимальна в зимний период (с декабря по март выше 30 ‰), а в апреле начинает понижаться и достигает минимума в мае-июне ($15\text{--}17$ ‰), когда отмечается наибольшее поступление в губу пресных вод. С июля по ноябрь солёность постепенно повышается, но остаётся ниже, чем зимой [12, 63]. Приливы в губе полусуточные высотой до 3–4 м. В фазе прилива губа заполняется солёной и холодной водой, а в фазе отлива – пресной и тёплой. Концентрация минеральных форм биогенных элементов в поверхностных водах относительно невелика. Концентрация фосфора на большей части губы менее $7,45 \text{ мкг л}^{-1}$. Концентрации нитритов и нитратов низки. Они повышаются с севера на юг губы и составляют для нитритов от $2,76 \text{ мкг л}^{-1}$ до $5,52 \text{ мкг л}^{-1}$, для нитратов от 34 мкг л^{-1} до 119 мкг л^{-1} . Большая часть минерального азота приходится на долю аммония (60–80 %). В среднем на акватории губы Печенга концентрация аммонийного азота составляет от 7 мкг л^{-1} до 35 мкг л^{-1} , но в южной её части он может достигать $135,8 \text{ мкг л}^{-1}$. Локальное увеличение аммонийного азота связано с развитием промышленной аквакультуры в губе Печенга. Большая часть валовых количеств биогенных элементов в поверхностном слое приходится на долю их органических форм. Наименьшая концентрация биогенных элементов наблюдается на прибрежном мелководье и увеличивается по направлению к центральной части губы. В бухте Девкина Заводь в июне 2014 года определена повышенная концентрация меди, никеля и хрома [63].



Рисунок 2.2 – Литораль в бухте Девкина Заводь (губа Печенга) (фото автора)

Губа Ура ($69^{\circ}18,1' \text{ N}$, $32^{\circ}50,2' \text{ E}$) располагается на побережье материка между мысом Выевनावолок и мысом Медвежий (рисунок 2.3). В западную часть вершины губы впадает река Ура. Грунт на входе в губу каменистый или песчаный, а в самой губе и вблизи её берегов преимущественно каменистый. Лёд в вершине губы Ура появляется в первой декаде ноября в умеренные зимы, а исчезает в первой половине мая. В течение зимы лёд может неоднократно взламываться, уноситься из губы и вновь образовываться [43].

Проведённые гидролого-гидрохимические исследования показали, что температура поверхностного слоя воды в восточной части губы изменялась от $2,6\text{--}3,1^{\circ}\text{C}$ в апреле до $8,0\text{--}9,0^{\circ}\text{C}$ в июле. Высокие температуры поверхностных вод сохранялись до октября месяца в южном участке губы [2, 19]. Солёность поверхностного слоя воды в летний и осенний период зависела от количества выпавших осадков и варьировала от $31,2\text{‰}$ до $33,4\text{‰}$ в южных участках губы и увеличивалась с глубиной. В апреле солёность поверхностных вод южного участка губы остаётся высокой ($34,0\text{‰}$), а уже в мае снижается до минимальных значений в году ($30,9\text{‰}$) за счёт поступления талых вод в акваторию [2, 19].

Концентрация биогенных элементов в поверхностном слое воды была невелика и заметно возрастала в придонном слое. Концентрация фосфатов в июле в поверхностном слое воды варьировала от $9,5 \text{ мкг л}^{-1}$ до $18,0 \text{ мкг л}^{-1}$. Большая часть азота присутствовала в аммонийной форме ($19,8\text{--}34,0 \text{ мкг л}^{-1}$), а концентрации нитратов и нитритов составляли всего от $8,68 \text{ мкг л}^{-1}$ до $26,66 \text{ мкг л}^{-1}$ и от $6,44 \text{ мкг л}^{-1}$ до $9,66 \text{ мкг л}^{-1}$ соответственно. Массовая концентрация нефтепродуктов в губе Ура чрезвычайно мала и не превышает $0,024 \text{ мг л}^{-1}$. Негативного воздействия на акваторию садкового хозяйства, расположенного в восточной части губы Ура, не выявлено [2].



Рисунок 2.3 – Литораль в губе Ура (фото автора)

Кольский залив вдаётся в берег материка в южном направлении. Вход в него расположен между северной оконечностью острова Торос и мысом Летинский. За счёт изгибов залив образует три колена: северное, среднее и южное. Северное и южное колена вытянуты в меридиональном направлении, а среднее – в юго-западном [42]. В заливе сильно выражен годовой ход температуры: минимум приходится на март ($0,5\text{--}1,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$), в апреле температура повышается до $1,0\text{--}1,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ и продолжает повышаться, достигая максимума 10--

11 °С в июле, с октября по март происходит остывание поверхностного слоя воды. Приливные колебания температуры на поверхностном горизонте достигают 1,5 °С в летние месяцы и не превышают 1,0 °С зимой. В слое воды 0–50 м солёность подвержена значительным изменениям. Опреснение резко увеличивается в южном колене залива. Зимой солёность в среднем и северном коленах не опускается ниже 30 ‰, в начале лета может понижаться до 15–20 ‰. В южном колене в зимние и весенние месяцы солёность составляет 20–25 ‰, а летом и осенью снижается до 10–15 ‰. Короткопериодная изменчивость солёности в среднем и северном коленах залива составляет 2,5 ‰, в южном колене – до 9 ‰. Ледяной припай в литоральной зоне и устьях рек образуется в феврале и марте [37]. Наиболее высокая концентрация фосфатов наблюдается в южном колене залива, в основном, под влиянием речного стока. В направлении с юга на север концентрация фосфатов постепенно уменьшается и в северном колене сравнима с концентрациями в Баренцевом море. Для вод южного колена концентрация фосфатов изменяется в пределах от 20 мкг л⁻¹ до 80 мкг л⁻¹, в среднем – от 20 мкг л⁻¹ до 25 мкг л⁻¹, в северном – от 10 мкг л⁻¹ до 25 мкг л⁻¹. В весенне-летний период концентрация фосфатов в северном колене минимальная. В южном колене её снижения в весенне-летний период не происходит. Концентрация нитратов наиболее низкая летом и осенью и составляет в южном колене от 40 мкг л⁻¹ до 60 мкг л⁻¹, в среднем – от 20 мкг л⁻¹ до 80 мкг л⁻¹, в северном – от 20 мкг л⁻¹ до 90 мкг л⁻¹. Зимой и весной концентрации нитратов по всей акватории залива выше и меняются в пределах от 60 мкг л⁻¹ до 110 мкг л⁻¹. Средние концентрации нитритов в южном и среднем коленах залива составляют от 1,0 мкг л⁻¹ до 4,0 мкг л⁻¹, а в северном – менее 1,0 мкг л⁻¹. Наблюдается явно выраженный сезонный ход в распределении нитритного азота: минимальные концентрации наблюдаются зимой, весной и летом они постепенно увеличиваются, достигая максимальных значений осенью. Концентрации нитритов уменьшаются в направлении с юга на север и от поверхности к придонному слою. Концентрация аммонийного азота также убывает в направлении с юга на север, но во многом зависит от расположения источников

сброса неочищенных промышленных и хозяйственно-бытовых стоков, большинство из которых находится в южной части залива. Сезонный ход аммонийного азота практически не выражен в южном колене, и наибольшие его концентрации наблюдаются зимой в районе водопоста Мурманск ($740\text{--}850\text{ мкг л}^{-1}$). В северной части залива аммонийный азот находится на уровне его концентрации в море, а сезонный ход отчётливо выражен и имеет тот же характер, что и в море (максимумы концентраций приходятся на лето и осень) [36].

Акватория южного колена Кольского залива подвержена значительному антропогенному воздействию из-за сброса производственных, промышленных, хозяйственно-бытовых и ливневых сточных вод предприятиями и организациями, расположенными по её берегам. Загрязнение повышает концентрации в водах биогенных элементов, нефтепродуктов и тяжелых металлов. Однако, по результатам мониторинга в 2017 г. воды Кольского залива признаны чистыми (2 класс качества вод) [15], подобное явление характерно только для последних лет наблюдений. Ранее в 2014–2015 гг. воды залива относили к очень грязным (5 класс качества вод). Это подтверждается и наблюдениями за состоянием прибрежной растительности, для которой было характерно нарушение структуры, снижении видового разнообразия, уменьшении биомассы доминирующих видов [49].

Губа Белокаменная ($69^{\circ}04,5' \text{ N}$, $33^{\circ}03,9' \text{ E}$) располагается на северо-западном берегу среднего колена Кольского залива (рисунок 2.4). В её вершину впадает речка Белокаменная. Губа мелководная. На входе в губу грунт илистый с песком, а на отмели илистый с камнями.

Мыс Абрам ($68^{\circ}58,5' \text{ N}$, $33^{\circ}01,6' \text{ E}$) выступает от западного берега южного колена залива (рисунок 2.5). Грунт на литорали песчаный с камнями [43].



Рисунок 2.4 – Литораль в губе Белокаменная (фото Зиминой О.Л.)



Рисунок 2.5 – Литораль в районе Абрам-мыса (фото автора)

Губа Териберская располагается на Мурманском берегу между мысом Долгий и мысом Териберский. В вершину внутренней части губы впадает река Териберка. Во внутренней части губы вблизи берегов грунт преимущественно

песчаный. Информация о годовом ходе температур, динамике солёности поверхностных вод, концентрации биогенных элементов (аммонийного азота, нитритного азота, нитратного азота, фосфатов) в водах губы Териберская в доступной опубликованной литературе отсутствует.

Губа Лодейная ($69^{\circ}10,9' \text{ N}$, $35^{\circ}07,6' \text{ E}$) вдаётся в западный берег внутренней части губы Териберская между мысом Девятый, оконечностью высокого каменистого полуострова, и мысом Восьмой. Южный и западный берега губы Лодейная представляют собой песчаный пляж, а северный берег покрыт камнями (рисунок 2.6).



Рисунок 2.6 – Участок литорали в губе Лодейная (фото автора)

Губа Корабельная ($69^{\circ}12,4' \text{ N}$, $35^{\circ}12,2' \text{ E}$) вдаётся в восточный берег внутренней части Териберской губы к югу от мыса Деплоранского (рисунок 2.7). В южной части губы лежит островок, соединённый с берегом осушкой [43].



Рисунок 2.7 – Литораль в губе Корабельная (фото автора)

Губа Оскара находится в юго-западной части губы Зеленецкая ($69^{\circ}07,1' \text{ N}$, $36^{\circ}04,6' \text{ E}$), которая вдаётся в берег между мысом Дернистый и мысом Зеленецкий (рисунок 2.8). В вершину губы Оскара впадает ручей. Грунт в губе преимущественно мелко каменистый, местами песчаный с илом. Приливные течения в Зеленецкой губе слабые [43]. Температура воды в течение года заметно изменяется от минус $1,9^{\circ}\text{C}$ до $13,0^{\circ}\text{C}$. Прогрев воды начинается в апреле и завершается в сентябре. В августе прирост температуры снижается, а в сентябре вода начинает постепенно остывать. Зимой и в начале весны среднемесячные температуры воды минимальны и составляют от $0,7^{\circ}\text{C}$ до $2,0^{\circ}\text{C}$. Летом поверхностный слой воды в губе прогревается до $9,1\text{--}9,7^{\circ}\text{C}$. Солёность воды определяется характеристиками вод Мурманского прибрежного течения. Но на солёность поверхностного слоя существенно влияют береговой сток и атмосферные осадки. В холодные месяцы и в периоды минимальных осадков (сентябрь-апрель) солёность воды наибольшая и составляет $34,0\text{--}34,4\text{‰}$. С мая по август она резко кратковременно снижается до $30\text{--}32\text{‰}$ за счёт атмосферных осадков и стока с материка талых вод. В июне-июле эпизодически солёность понижается до $20\text{--}24\text{‰}$ [21].



Рисунок 2.8 – Литораль в губе Зеленецкая (фото автора)

2.2 Объекты исследования

Объектами исследования являлись бурые водоросли рода *Fucus*: *Fucus vesiculosus* L., *F. distichus* L., *F. serratus* L.

В талломе фукусовых водорослей выделяют несколько частей: апикальный участок, расположенный на вершинах ветвей, основная часть таллома в виде разветвлённого кустика, цилиндрический стволик, конусовидная или дисковидная подошва, рецептакулы (рисунок 2.9) [17]. Каждая часть таллома выполняет определённые функции, что отражается на количественном содержании различных веществ в каждой из частей таллома.

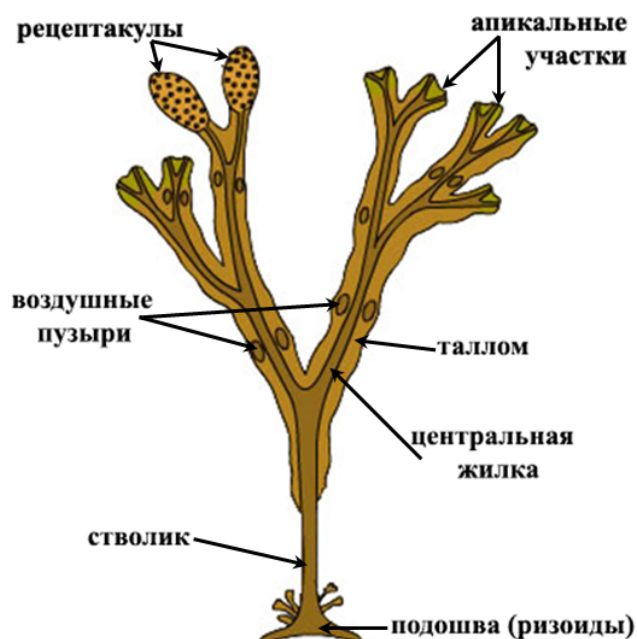


Рисунок 2.9 – Схема слоевища *F. vesiculosus* с обозначением участков

2.3 Методы исследования

2.3.1 Определение факторов внешней среды

Интенсивность освещения (фотосинтетически активную радиацию, ФАР) определяли фотометром LI-185A (LI-COR, Lambda Inst., США). Датчик прибора устанавливали вертикально, на уровне расположения водорослей, и фиксировали показания на шкале прибора. Интенсивность освещения измеряли в $\text{мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$.

Приливо-отливной цикл (ПОЦ). Приливо-отливной цикл определяли по таблицам приливов-отливов, рассчитанным в программе WXTide 32 version 4.7 (США) для конкретного района на дату отбора проб, а также визуально. Приливо-отливной цикл указывали в метрах глубины водной толщи по отношению к уровню моря.

Температура воды и воздуха. Температуру воды и воздуха на месте сбора водорослей определяли с помощью ртутного термометра со шкалой измерения от минус 30 °С до плюс 20 °С и ценой деления 0,1 °С (модель ТЛ-4, Россия, ТУ 25-2021.003-88). Для измерения температуры воды в 3–4 местах в районе сбора

водорослей термометр погружали в воду на 5–10 см и держали до установления постоянной температуры. Температуру воздуха определяли по термометру 3–4 раза в течение 20–30 мин. Значение температуры указывали как среднее арифметическое от всех измерений. Температуру измеряли в °C.

Солёность морской воды. Морскую воду для определения солёности отбирали химически чистыми стеклянными склянками объёмом 250 мл с завинчивающимися крышками на глубине 10–15 см от поверхности воды. Склянку предварительно ополаскивали 2–3 раза морской водой, а затем набирали воду для анализа. Перед определением солёности склянки с водой ставили на ровную поверхность в лаборатории для осаждения взвеси и нагрева до комнатной температуры. Пипетку Пастера 2–3 раза промывали водой из определяемой склянки, затем капали 3–4 капли на призму цифрового солемера Milwaukee MA886 (Milwaukee Electronics, США) с автоматической температурной компенсацией. Определение солёности проводили в трёх повторностях. При смене образца воды призму прибора промывали дистиллированной водой и просушивали мягкой салфеткой. Перед измерением проводили калибровку прибора по свежей дистиллированной воде. Солёность воды измеряли в промилле (‰).

2.3.2 Определение качественного состава и концентрации САК

Извлечение САК производили из свежих или фиксированных жидким азотом водорослей, в случае свежих водорослей - не позднее чем через 3 ч после сбора. Для исследования брали разные части таллома от 6 растений длиной 25–40 см. Участки талломов измельчали и из общей массы брали среднюю пробу для исследования [14].

Навеску водорослевого материала в количестве 1,0–1,5 г, взвешенную на весах ВЛТЭ-310 (Госметр, Россия) с точностью до третьего знака после запятой, растирали в ступке с добавлением стеклянного песка и переносили в пробирку типа Фалькон, заливали 7 мл горячего (60–70 °C) 70 % этанола, встряхивали и настаивали при постоянном перемешивании в течение 1 часа при комнатной

температуре. После настаивания экстракт отделяли от водорослевой массы центрифугированием в течение 5 мин при 1900 g. Центрифугат сливали в выпаривательную чашку, а осадок экстрагировали аналогичным способом ещё 2 раза. Полученные экстракты смешивали и удаляли из них спирт выпариванием на кипящей водяной бане.

Полученный сухой остаток растворяли в дистиллированной воде и центрифугировали 10 мин при 6000 g для отделения нерастворившихся веществ (липиды, пигменты, минеральные вещества и др.). Для удаления из экстракта водорастворимых веществ, которые могут мешать определению аминокислот (сахара, пигменты и др.), его подвергали дополнительной очистке. Для этого применяли метод ионообменной хроматографии с катионитом КУ–2–8 [52]. Скорость протекания очищаемого экстракта не превышала $1 \text{ мл} \cdot \text{мин}^{-1}$. При этом аминокислоты адсорбируются на смоле, а сахара, органические кислоты и минеральные вещества проходят сквозь обменник. После того как весь исходный раствор пропустили через колонку, её хорошо промывали водой до полного удаления ненужных соединений. Для суммарного извлечения всех аминокислот с колонки применяли 4 н HCl, пропуская кислоту через колонку со скоростью $1 \text{ мл} \cdot \text{мин}^{-1}$. Полученный раствор аминокислот подвергали выпариванию на водяной бане для удаления кислоты. Остаток, содержащий аминокислоты, растворяли в определённом объёме дистиллированной воды и центрифугировали при 6000 g в течение 10 мин. Срок хранения полученного раствора - до 5 суток при температуре от $2,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ до $5,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Полученный раствор анализировали методами высокоэффективной жидкостной хроматографии или капиллярного электрофореза с применением стандартов аминокислот.

В ходе проведения исследования осуществляли определение 19 протеиногенных аминокислот (аланин, аспарагиновая кислота, аргинин, валин, гистидин, глицин, глутаминовая кислота, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, пролин, серин, тирозин, треонин, триптофан, фенилаланин, цистин с цистеином) и 3 непротеиногенных аминокислоты: гидроксипролин, орнитин и таурин.

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для определения качественного состава и концентрации САК у фукусковых водорослей использовали методику для определения аминокислот в сложных объектах биологического происхождения [16, 60]. Из подготовленных растворов отбирали аликвоту объёмом 0,05–0,10 мл в пробирку и высушивали её. Высушенные аликвоты преобразовывали с раствором фенилизотиоционата в изопропанол, высушивали, перерастворяли осадок в 1 мл дистиллированной воды и центрифугировали 5 мин при 6000 g. Полученные растворы использовали для ввода в хроматограф.

Анализ аминокислот проводили с помощью жидкостного хроматографа фирмы Shimadzu LC-20AD Prominence (Япония) с детектором на фотодиодной матрице Shimadzu SPD-M20A Prominence, инжектором фирмы Rheodyne (США), оснащённым 20 мкл петлёй и хроматографической колонкой C18 размером 250 x 4,6 мм и диаметром пор 5 мкм (Supelco, США). Условия проведения анализа представлены в таблице 2.1 [60].

Таблица 2.1 – Условия проведения анализа на высокоэффективном жидкостном хроматографе

Режим элюирования	градиентный
Компонент А	ацетатный буфер 0,06 моль·л ⁻¹ , pH 5,5
Компонент В	ацетонитрил +1 % изопропанола
Компонент С	ацетатный буфер 0,06 моль·л ⁻¹ , pH 4,05
Скорость потока элюента, см ³ ·мин ⁻¹	1,2
Длина волны детектирования, нм	254
Объём вводимой дозы, мм ³	20

Для разделения пиков аминокислот использовали программу градиентного элюирования, представленную в статье Руденко и др. [60], с небольшими изменениями времени смешивания компонентов для разделения пиков аргинина с треонином и хлорида аммония с пролином. Полученные хроматограммы анализировались в программе LabSolution по построенным градуировочным графикам стандартов аминокислот фирмы Sigma (набор аналитических стандартов L-аминокислот LAA21–1KT). Данные представлены в виде мг аминокислоты на г сухой массы водорослей.

Метод капиллярного электрофореза. Определение качественного состава и концентрации САК также проводили по Методике... (2014) [51] с предварительной дериватизацией аминокислот. Из подготовленных растворов отбирали аликвоту объёмом 0,1–0,2 мл в выпарительную чашку и выпаривали в токе тёплого воздуха при температуре 60–65 °С. Сухие остатки преобразовывали с растворами карбоната натрия и фенилизотиоцианата в изопропанол. Затем растворы выпаривали, сухие остатки растворяли в 0,5 мл дистиллированной воды и центрифугировали в течение 5 мин при 1500 g. Полученный раствор использовали для определения САК на системе капиллярного электрофореза «Капель-105М» (Люмэкс, Россия) с использованием кварцевого капилляра (общая длина 75 см, внутренним диаметром 50 мкм) и фотометрического детектора. Электрофорез проводили при температуре 30 °С, напряжении плюс 25 кВ и давлении 0–50 мбар, в зависимости от определяемых соединений. Детектирование производили при длине волны 254 нм. Анализ полученных электрофорерограмм осуществляли в программе Elforun по построенным градуировочным графикам стандартов аминокислот фирмы Sigma (набор аналитических стандартов L-аминокислот LAA21–1КТ; L-орнитин 75440–5G; таурин 86329–25G). Данные представлены в виде мг аминокислоты на г сухой массы водорослей.

Особенности в определении качественного состава и концентрации САК. Качественный состав пула САК у водорослей не является постоянным, это может быть связано не только с объектом исследования. Чаще всего непротеиногенные аминокислоты содержатся в очень малых количествах и их концентрации ниже минимально возможных концентраций, определяемых как методом ВЭЖХ, так и методом капиллярного электрофореза. Подобные трудности возникают и с протеиногенными аминокислотами, концентрация которых в объекте исследования также может быть очень низкой. К таким аминокислотам у водорослей относятся метионин, гистидин, триптофан. Цистин плохо растворяется в воде и определяется совместно с цистеином, как методом ВЭЖХ, так и методом капиллярного электрофореза. При воздействии сильных концентрированных кислот цистин с цистеином разрушаются, что приводит к

занижению значений данных аминокислот. Для снижения потерь пробы на определение цистина с цистеином предварительно окисляют до цистеиновой кислоты [51]. При анализе методом капиллярного электрофореза совместно определяются и лейцин с изолейцином, поскольку их пики плохо разделяются, но по пику выхода лейцина с изолейцином видно, что содержатся два компонента [51]. Амиды аминокислот (аспарагин и глутамин) гидролизуются до аспарагиновой и глутаминовой кислот под воздействием соляной кислоты. Поэтому данные по аспарагиновой и глутаминовой кислотам представляют собой суммарное количество кислоты и соответствующего ей амида [51, 52]. Триптофан, также как и цистин с цистеином, разрушается под воздействием кислот и его не всегда удаётся определить в пробах водорослей, особенно, если приходится дополнительно очищать водорослевый экстракт на ионообменной смоле с применением 4 н соляной кислоты [51, 52].

В результате качественный состав пула САК исследуемых образцов водорослей может меняться, но при этом на общую концентрацию САК и концентрации доминирующих аминокислот и большинства остальных САК это не оказывает значимого влияния.

Так как в работе использовали два метода определения САК – метод высокоэффективной жидкостной хроматографии и капиллярного электрофореза, то было проведено дополнительное исследование сравнимости результатов, полученных разными методами. В результате исследования одной и той же пробы на разных приборах (высокоэффективный жидкостной хроматограф и система капиллярного электрофореза) значимых различий в концентрациях САК выявлено не было.

Спектрофотометрический метод Байтса. Определение концентрации свободного пролина у водорослей осуществляли методом Байтса [81]. Навеску сырых водорослей массой 0,5–0,7 г, взвешенную с точностью до третьего знака после запятой, гомогенизировали в 10 мл 3 % водного раствора сульфосалициловой кислоты и гомогенат отфильтровывали через фильтровальную бумагу. В пробирки добавляли 2 мл фильтрата, 2 мл кислого

нингидрина и 2 мл ледяной уксусной кислоты. Полученную смесь перемешивали. Пробирки закрывали и ставили на 1 час на кипящую водяную баню при температуре 100 °С. Реакцию останавливали, помещая пробирки с раствором в ледяную баню. Затем в пробирки добавляли по 4 мл толуола и интенсивно встряхивали в течение 15–20 сек. Верхний окрашенный слой толуола отделяли от водной фазы, нагревали до комнатной температуры. Концентрацию пролина в окрашенном растворе толуола определяли на спектрофотометре ПЭ-5300ВИ (Экрос, Россия) при длине волны 520 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм против чистого толуола.

Концентрацию пролина в водорослях рассчитывали по формуле:

$$P = \frac{x \cdot 4 \cdot 5}{1000 \cdot m \cdot (1 - \omega)},$$

где Р – концентрация пролина, мкг·г⁻¹ сухой массы водорослей; х – концентрация пролина в 2 мл пробы (определяли по калибровочной кривой), мкг·мл⁻¹ (определяется по калибровочной кривой); m – масса растительной пробы, г; ω – доля воды в пробе водорослей [81].

2.3.3 Определение массовой доли сухого вещества у водорослей

Определение массовой доли сухого вещества в талломах водорослей выполняли стандартным методом: свежесобранные водоросли обсушивали фильтровальной бумагой для удаления капельной влаги с поверхности, навески водорослей ($n \geq 10$) взвешивали и высушивали в сушильном шкафу при температуре 103 ± 2 °С [14]. После остывания навески повторно взвешивали. Высушивание повторяли до тех пор, пока масса навесок не становилась постоянной. Взвешивание сырых и высушенных навесок осуществляли на весах ВЛТЭ – 310 (Госметр, Россия) с точностью до 0,001 г. Полученные данные использовали в дальнейших расчетах.

2.4 Проведённые исследования

Работа состояла из двух частей: исследование водорослей из природных популяций и экспериментальные исследования влияния температуры и солёности на качественный состав и концентрацию САК *F. vesiculosus*.

2.4.1 Исследование водорослей из природных популяций

Качественный состав и концентрация САК у *F. vesiculosus* и родственных видов. Для исследования были собраны образцы трёх видов рода *Fucus*: *F. vesiculosus*, *F. distichus* и *F. serratus*. Сбор материала осуществляли в конце июля 2014 г в губе Оскара (юго-западная часть губы Зеленецкая) Баренцева моря (69°07,1' N, 36°04,6' E) (рисунки 2.1 и 2.8). Определение качественного состава и концентрации САК проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в *средней* части таллома водорослей, поскольку она является физиологически активной и составляет большую часть таллома.

Качественный состав и концентрация САК в разных участках таллома *F. vesiculosus*. Сбор материала осуществляли раз в сезон (апрель, июль, октябрь и декабрь) в 2016 году в южном колене Кольского залива Баренцева моря (район Абрам-мыса 68°58,5' N, 33°01,6' E) (рисунки 2.1 и 2.5). Талломы *F. vesiculosus* (6 образцов длиной 25-30 см с 7–10 дихотомическими ветвлениями) собирали со средней части литоральной зоны в период отлива. Талломы разделяли с помощью ножниц на участки: *апикальные* части, *средние* (основные) части, *стволики* и *рецептакулы* (рисунок 2.10) – и фиксировали 96 % этанолом. Определение качественного состава и концентрации проводили методом капиллярного электрофореза.

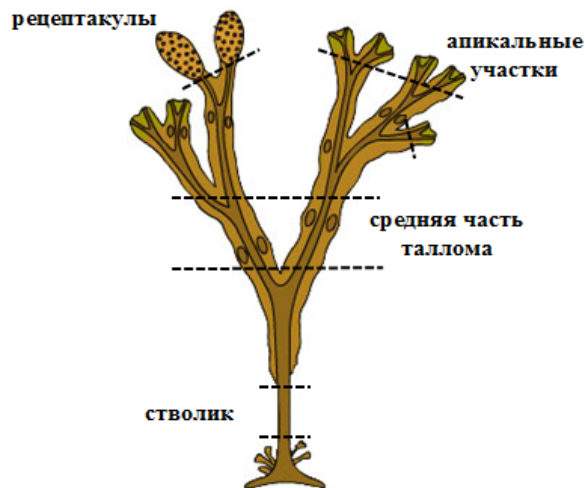


Рисунок 2.10 – Схема разделения таллома *F. vesiculosus* на анализируемые участки

Суточные изменения качественного состава и концентрации САК у *F. vesiculosus*. Исследование проводили на базе сезонной биостанции ММБИ РАН (Мурманская область, пос. Дальние Зеленцы), расположенной в губе Зеленецкая Баренцева моря ($69^{\circ}07,1' \text{ N}$, $36^{\circ}04,6' \text{ E}$). Отбор материала осуществляли в период полярного дня, с 14 по 15 июля 2020 г, в течение 26 часов (рисунки 2.1 и 2.8). Пробы отбирали каждые два часа. Для исследования брали *апикальные* участки от 6 талломов *F. vesiculosus* с 5–7 дихотомическими ветвлениями. Выбор апикальных участков таллома обусловлен тем, что они являются быстро растущей и наиболее чувствительной к изменению условий внешней среды частью таллома. Навески водорослевого материала фиксировали 96 % этанолом и хранили в тёмном прохладном месте до анализа. При отборе проб измеряли температуру среды обитания водорослей (воды или воздуха, в зависимости от фазы приливно-отливного цикла (ПОЦ), интенсивность фотосинтетически активной радиации, фиксировали фазу ПОЦ и высоту воды. Определение качественного состава и концентрации САК проводили методом капиллярного электрофореза.

Сезонные изменения качественного состава и концентрации САК у *F. vesiculosus*. Для исследования сезонной динамики САК у *F. vesiculosus*, произрастающих на среднем горизонте литоральной зоны, в южном колене Кольского залива Баренцева моря (район Абрам-мыса $68^{\circ}58,5' \text{ N}$, $33^{\circ}01,6' \text{ E}$) (рисунки 2.1 и 2.5), сбор материала осуществляли ежемесячно, в дневной период

(с 10 часов до 12 часов утра) в одну и ту же фазу отлива с января по декабрь 2016 г. Собранные образцы водорослей были с 7–10 дихотомическими ветвлениями. Определение качественного состава и концентрации САК проводили в *средней* части таллома фиксированных 96 % этанолом свежесобранных водорослей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Влияние температуры и солёности на качественный состав, концентрацию и распределение САК по таллому *F. vesiculosus* в природных условиях. Исследование проводили на материале собранном в апреле 2014 и 2016 гг, в различных губах и заливах Мурманского побережья Баренцева моря (рисунок 2.1). Отбор проб производили со среднего горизонта литоральной зоны в одну и ту же фазу отлива. Собирали образцы водорослей с 7–10 дихотомическими ветвлениями. Определение качественного состава и концентрации САК проводили в разных частях таллома (апексах, средней части таллома, рецептакулах) фиксированных 96 % этанолом свежесобранных водорослей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

2.4.2 Экспериментальные исследования

Влияние отрицательных температур на концентрацию пролина у *F. vesiculosus*. Исследование проводили на базе лаборатории ММБИ РАН (г. Мурманск, ул. Владимирская 17) в период с 7 октября по 10 ноября 2010 г. Для эксперимента водоросли отбирали в губе Белокаменная (69°04,5' N, 33°03,9' E) Кольского залива Баренцева моря со среднего горизонта литорали в период отлива (рисунки 2.1 и 2.4). Количество дихотомических ветвлений у растений составляло 7–10. Для исследования брали *средние* участки талломов водорослей.

Собранные водоросли были помещены в один аквариум объёмом 120 л, наполненный водой, отобранной в месте произрастания водорослей. Три таллома были помечены как экспериментальные, а оставшиеся 3 — как контрольные. Температура воды в аквариуме в течение всего эксперимента поддерживалась в

пределах от 8 °С до 10 °С. Замена воды в аквариуме на свежую производилась 1 раз в 7 суток. Солёность морской воды в аквариуме менялась незначительно и составляла 30-34 ‰. Фотопериод в течение дня соответствовал природным условиям на момент сбора водорослей и составлял 10:14 (свет:темнота). Для освещения использовали две люминесцентные лампы мощностью 21 Вт·м⁻². До начала эксперимента водоросли акклиматизировали к условиям аквариальной в течение 3 суток. Во время проведения эксперимента ежедневно в течение 4 часов водоросли подвергали осушению (имитация отлива): при этом контрольные образцы находились в помещении аквариальной на воздухе (температура воздуха составляла от 8 °С до 11 °С), а экспериментальные растения помещали в морозильную камеру на 3 ч с температурой воздуха от минус 10 °С до минус 12 °С, а затем на 1 час в холодильную камеру с температурой воздуха от 3 °С до 5 °С, чтобы водоросли не получили теплового шока при помещении обратно в аквариум.

Эксперимент проводили в течение 24 суток. Для оценки влияния отрицательных температур на концентрацию пролина пробы отбирали на 1, 3, 6, 12, 18 и 24 сутки эксперимента. В конце эксперимента была также определена концентрация пролина у шести талломов *F. vesiculosus* из природных условий (губа Белокаменная, 9 ноября 2010 г).

Определение концентрации свободного пролина проводили спектрофотометрическим методом Байтса [80].

Влияние опреснения на качественный состав и концентрацию САК у *F. vesiculosus*. Исследование проводили на сезонной биостанции ММБИ РАН (Мурманская область, пос. Дальние Зеленцы). Талломы *F. vesiculosus* для эксперимента собирали в августе 2018 года со среднего горизонта литорали губы Зеленецкая Баренцева моря (69°07,1' N, 36°04,6' E) в период отлива (рисунки 2.1 и 2.8). Талломы очищали от обрастателей и помещали в сосуды с морской водой, отобранной в месте произрастания водорослей. Количество дихотомических ветвлений талломов составляло 4–5. Для исследования брали *апикальные* участки талломов водорослей.

Экспериментальные работы проводили в термостатируемом помещении с постоянным освещением светодиодными лампами интенсивностью $150 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$, температурой воздуха и воды от 8°C до 10°C и аэрацией сосудов с водорослями. Водоросли предварительно акклиматизировали к условиям лаборатории в течение 3 суток. Затем их помещали в сосуды с водой различной солёности согласно схеме эксперимента. В эксперименте использовали воду солёностью 33 ‰ (контроль), 20 ‰ и 10 ‰. Воду солёностью 20 ‰ и 10 ‰ готовили разбавляя морскую воду (33 ‰), в которой произрастали водоросли, пресной водой из ручья, впадающего в губу Зеленецкая. Замена воды производилась раз в 3 дня. Контроль за солёностью воды осуществляли ежедневно с помощью рефрактометра фирмы Kelilong (модель RHS-10ATC, Китай). Длительность эксперимента составила 14 суток. Для оценки влияния опреснения на качественный состав и концентрацию САК у *F. vesiculosus* производили отбор проб через 3 ч, 12 ч, 24 ч, 7 и 14 суток с момента помещения водорослей в сосуды с разной солёностью. Определение качественного состава и концентрации САК проводили методом капиллярного электрофореза.

2.5 Статистическая обработка и анализ данных

Биохимические измерения проводили не менее чем в трёхкратной биологической повторности. Проверку на нормальность распределения полученных данных осуществляли с использованием критерия Шапиро-Уилка ($\alpha = 0,05$). В большинстве случаев распределение данных не соответствовало закону нормального распределения, поэтому для анализа данных применяли непараметрические методы статистического анализа для независимых переменных [18]. Статистическую достоверность различий оценивали при помощи критерия Манна-Уитни ($p < 0,05$). Данные на рисунках и в таблицах представлены в виде медианы измеряемых параметров. Для определения влияния факторов внешней среды на концентрацию САК у водорослей, а также при сравнении пула САК *F. vesiculosus*, *F. distichus* и *F. serratus*, применяли критерий

Краскела-Уоллиса ($\alpha = 0,05$). При выявлении значимого влияния определяли наличие зависимости между концентрацией САК и абиотическими факторами с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена ($p < 0,05$). Для оценки качественной характеристики силы связи между показателями применяли шкалу Чеддока [71]. Обработку данных осуществляли в программах Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, California, USA, 2010) и NCSS 11 Statistical Software (NCSS, LLC, Kaysville, Utah, USA, 2016).

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Качественный состав и концентрация САК у *Fucus vesiculosus* и родственных видов фукусовых водорослей (*F. distichus* и *F. serratus*) Баренцева моря

У исследуемых видов водорослей было определено наличие 20 САК, 19 из которых относятся к протеиногенным аминокислотам и 1 (гидроксипролин) – к непротеиногенным. У всех водорослей состав пула САК был аналогичен, в зависимости от вида изменялось только их концентрация (таблица 3.1).

Таблица 3.1 – Концентрация САК в средней части таллома фукусовых водорослей, мг·г⁻¹ сухой массы водорослей*

Аминокислота	<i>F. vesiculosus</i>	<i>F. distichus</i>	<i>F. serratus</i>
Аланин	0,643 ^a	0,344 ^a	0,698 ^a
Аргинин	0,034 ^a	0,006 ^a	0,011 ^a
Аспарагиновая кислота	0,245 ^a	0,062 ^a	0,074 ^a
Гистидин	0,034	0,016 ^a	0,035
Глицин	0,065	0,129 ^a	0,076
Глутаминовая кислота	0,528 ^a	0,367	0,362
Пролин	0,089	0,046 ^a	0,092
Серин	0,115 ^a	0,087 ^a	0,141 ^a
Тирозин	0,080	0,039 ^a	0,057
Цистеин+цистин	0,042	0,035	0,041
Валин	0,049 ^a	0,036 ^a	0,065 ^a
Изолейцин	0,026	0,014 ^a	0,023
Лейцин	0,041 ^a	0,031 ^a	0,053 ^a
Лизин	0,017	0,018	0,033 ^a
Метионин	0,027 ^a	0,077 ^a	0,021 ^a
Треонин	0,097 ^a	0,067 ^a	0,136 ^a
Триптофан	0,016	0,013 ^a	0,019
Фенилаланин	0,127	0,105	0,135
Гидроксипролин	0,002	0,003	0,003
Сумма САК	2,275	1,496 ^a	2,075
Сумма незаменимых аминокислот	0,400	0,362	0,484 ^a
Гидрофильные полярные аминокислоты	0,938 ^a	0,509 ^a	0,572 ^a

Примечания

- 1) * – данные представлены в виде медианы;
- 2) ^a – значимые различия при сравнении с другими видами

В составе САК у всех трёх видов преобладали аланин, глутаминовая кислота, фенилаланин и серин. У *F. vesiculosus* была выявлена высокая концентрация аспарагиновой кислоты, у *F. distichus* – глицина, а у *F. serratus* – треонина.

Относительное содержание незаменимых аминокислот у *F. distichus* и *F. serratus* выше, чем у *F. vesiculosus*, а гидрофильных полярных аминокислот выше у *F. vesiculosus*, по сравнению с другими исследованными фукусами (таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Относительное содержание САК в средней части таллома в разных видах фукусовых водорослей, % от суммы САК*

Аминокислота	<i>F. vesiculosus</i>	<i>F. distichus</i>	<i>F. serratus</i>
Аланин	28,26	22,99	33,64
Аргинин	1,49	0,40	0,53
Аспарагиновая кислота	10,77	4,14	3,57
Гистидин	1,49	1,07	1,69
Глицин	2,86	8,62	3,66
Глутаминовая кислота	23,21	24,53	17,45
Пролин	3,91	3,07	4,43
Серин	5,05	5,82	6,80
Тирозин	3,52	2,61	2,75
Цистин+цистеин	1,85	2,34	1,98
Валин	2,15	2,41	3,13
Изолейцин	1,14	0,94	1,11
Лейцин	1,80	2,07	2,55
Лизин	0,75	1,20	1,59
Метионин	1,19	5,15	1,01
Треонин	4,26	4,48	6,55
Триптофан	0,70	0,87	0,92
Фенилаланин	5,58	7,02	6,51
Гидроксипролин	0,09	0,20	0,14
Сумма незаменимых аминокислот	17,58	24,20	23,33
Гидрофильные полярные аминокислоты	41,23	34,02	27,57

Примечания

- 1) * – данные представлены в виде процентного соотношения медиан концентраций отдельных аминокислот к медианам суммарной концентрации САК у водорослей;
- 2) жирным шрифтом отмечены аминокислоты с относительным содержанием более 5 %

Сравнение видов на основании критерия Краскела-Уоллиса показало, что концентрация практически всех САК является видоспецифичным биохимическим показателем. Только концентрации цистина с цистеином и фенилаланина у исследуемых фукусов оказались близкими и значимо не отличались. Общая концентрация САК у *F. vesiculosus* и *F. serratus* была одинакова и более высокой по сравнению с *F. distichus*. *F. vesiculosus* выделяется более высокой концентрацией аспарагиновой кислоты, аргинина, глутаминовой кислоты и суммы гидрофильных полярных аминокислот, по сравнению с другими видами фукусов. У *F. distichus* была определена более высокая концентрация глицина и метионина, а у *F. serratus* – аланина, валина, серина, лейцина, лизина, треонина и суммы незаменимых аминокислот (таблица 3.1).

По составу пула САК исследованные фукусовые водоросли Баренцева моря не отличаются от бурых водорослей, произрастающих в других регионах. У разных видов бурых водорослей определено наличие 15–30 САК. При этом основная часть пула САК представлена протеиногенными аминокислотами [34, 95, 125, 162, 213, 217]. Различия в составе пула связаны с присутствием и идентификацией непротеиногенных аминокислот, концентрация которых в большинстве случаев очень низкая. В исследуемых видах фукусов среди идентифицированных нами аминокислот лишь одна относилась к непротеиногенным. Это гидроксипролин, концентрация которого также была низкой у всех трёх видов (таблица 3.1). Помимо гидроксипролина в представителях семейства *Fucaceae* встречается серосодержащая аминокислота таурин [217].

Для исследованных видов фукусовых водорослей Баренцева моря характерно преобладание в составе пула САК тех же составляющих, что и для представителей семейства *Fucaceae*, произрастающих на северном побережье Норвегии, северо-центральной побережье Португалии, западном побережье Шотландии [161, 191, 217]. Это такие аминокислоты, как аланин, глутаминовая кислота, фенилаланин, аспарагиновая кислота, треонин. Также у исследованных в данной работе водорослей было определено высокое относительное содержание

серина, глицина и метионина. На долю преобладающих аминокислот приходилось от 70,95 % до 74,13 % от суммы САК у водорослей. Относительное содержание остальных 12 САК в пуле не превышало 5 % от суммы аминокислот. Это свидетельствует о ярко выраженном преобладании в составе пула одних аминокислот по отношению к другим [28]. Подобное соотношение аминокислот в пуле САК является характерным для различных видов водорослей [22, 95, 125, 152, 162, 213, 217].

Исследованные нами виды водорослей рода *Fucus* содержали меньшие концентрации САК, чем представители бурых водорослей с побережья Норвегии (3,5–15,5 мг·г⁻¹ сухой массы), Исландии (10,7 мг·г⁻¹ сухой массы), Дальнего Востока России (78–90 мг·г⁻¹ сухой массы), Японии (15,9–23,6 мг·г⁻¹ сухой массы) [34, 125, 161, 162, 213]. Эти различия могут быть связаны с видовыми особенностями, комплексом абиотических факторов мест произрастания, с сезоном сбора и исследованием разных участков таллома водорослей [38, 85, 111, 191, 217]. Как показало настоящее исследование (см. главы 3.2 и 3.6), различия также могут быть связаны как с отличиями в температурных и солёностных режимах мест произрастания, так и в пробоподготовке образцов для определения концентрации САК (фиксация, заморозка или высушивание водорослей; выбор состава экстрагента) [20, 28].

Скорее всего, различия в концентрации аминокислот будут связаны с их функциями. У большинства морских водорослей такие аминокислоты, как аланин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты составляют значительную часть пула САК. Исследователи предполагают, что широкая распространённость и высокая концентрация этих соединений у абсолютно разных видов водорослей связана с их тесной связью с циклом трикарбоновых кислот [102, 125, 160]. Это даёт возможность организму использовать данные аминокислоты не только как структурные составляющие белков и пептидов, но и как запасную форму азота и углерода, как источник энергии для синтеза других соединений. При этом, накапливаясь, они не оказывают токсического воздействия на организм.

Различия в качественном составе и концентрации САК у разных видов водорослей связаны не только с физиологическими особенностями видов, но и определяются факторами среды. Для водорослей, произрастающих в литоральной зоне, большое значение будет оказывать смена водной и воздушной сред обитания, и продолжительность нахождения в каждой из них. Исследуемые виды фукусовых водорослей растут на разных горизонтах литорали, но границы их произрастания могут пересекаться [72].

Среди протеиногенных аминокислот выделяют группу гидрофильных полярных соединений. К ним относятся аспарагиновая и глутаминовая кислоты, тирозин, лизин, аргинин и гистидин [6]. Показано, что эти аминокислоты увеличивают растворимость пептидов и белков в водных растворах и обычно располагаются на поверхности молекул белков [74]. Возможно, свободные гидрофильные полярные аминокислоты могут способствовать стабилизации и устойчивости белковых молекул при изменении водного режима, удерживая гидратную оболочку вокруг белков или заменяя её.

Устойчивость к осушению и восстановление физиологических функций после регидратации отличается у исследуемых видов фукусовых. *F. vesiculosus* с верхнего горизонта литорали выдерживает более длительное нахождение в воздушной среде и медленнее теряет влагу, по сравнению с *F. serratus* с нижнего горизонта литорали [1, 83, 198]. Значительное высыхание при отливе (потеря до 91 % влаги) не приводит к гибели водорослей вида *F. vesiculosus* [129]. Способность восстанавливать фотосинтетическую активность после длительного периода осушения связывают с возможностью удерживать небольшие количества воды, связанной с матриксом клетки, и особенностями молекулярной среды вокруг фотосинтетических ферментов [132]. Концентрация дегидрин-подобных протеинов также может быть важным фактором для выживания водорослей при длительном осушении [89, 153]. Вероятно, что гидрофильные полярные САК могут также способствовать сохранению структуры и функций белков при длительном осушении водорослей во время отлива. По относительному содержанию данной группы соединений исследуемые водоросли располагаются в

порядке: *F. vesiculosus* > *F. distichus* > *F. serratus*, что соответствует их устойчивости к осушению [1, 83, 198] и высоте произрастания по горизонтам литорали. Но для подтверждения этой гипотезы необходимо проведение дополнительных исследований.

Проведённое исследование показало, что для пула САК водорослей рода *Fucus* характерно преобладание 5–6 аминокислот, относительное содержание остальных САК не превышает 5 % от их суммы. В качественном составе САК исследованных видов преобладали аланин, глутаминовая кислота, фенилаланин и серин. Родственные виды фукусов не отличаются по качественному составу САК, но концентрации отдельных аминокислот различаются. Высокое относительное содержание гидрофильных полярных САК у *F. vesiculosus*, возможно, является одной из приспособительных реакций организма к длительному осушению в период отлива.

3.2 Распределение САК по таллomu *F. vesiculosus*

Для выявления различий в качественном составе и концентрации САК между участками таллома *F. vesiculosus* таллом водоросли разделяли на анализируемые участки (апикальные, средние, стволик и рецептакулы) и определяли в них качественный состав и концентрацию САК. В период проведения исследований скорость роста фукусовых водорослей высокая [163].

В результате было показано, что качественный состав пула САК разных участков таллома не отличается и представлен 20 аминокислотами (19 протеиногенных и 1 непротеиногенная). В наибольшей концентрации содержалась глутаминовая кислота (54,3–66,2 % от суммы САК). Относительно высокой оказалась концентрация аспарагиновой кислоты (12,2–19,3 % от суммы САК), аланина (6,4–7,5 % от суммы САК) и фенилаланина (1,7–3,2 % от суммы САК) во всех исследованных частях таллома. Для стволика и средней части таллома было характерно высокое относительное содержание пролина (6,6–10,4% от суммы САК), а концентрации гистидина, серина, треонина и цестина с цистеином в стволике и рецептакулах составили от 1,0 % до 3,1 % от суммы САК.

Остальные аминокислоты, входящие в пул САК, находились в количестве не более 1 % от суммы САК во всех исследованных участках таллома (рисунок 3.1).

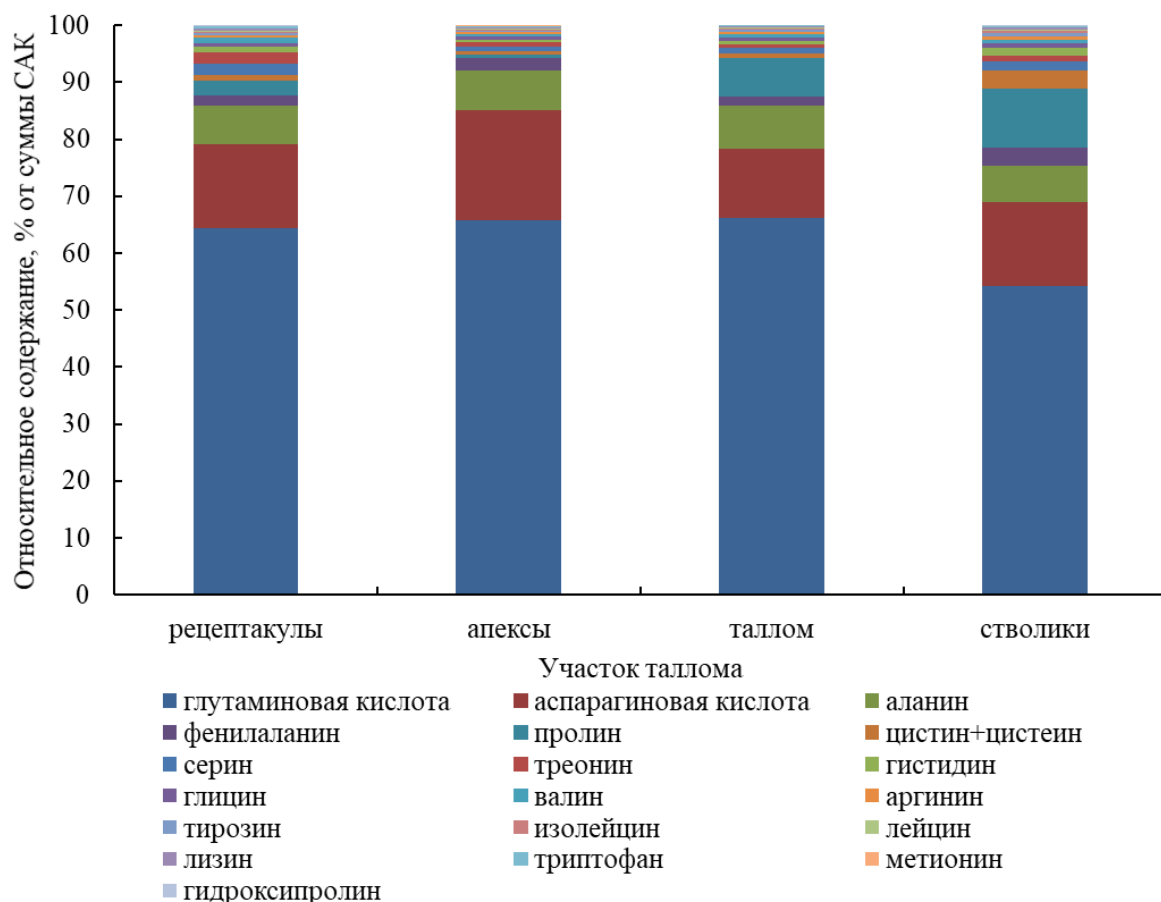


Рисунок 3.1 – Относительное содержание САК в разных участках таллома *F. vesiculosus*. Данные представлены в виде процентного соотношения медиан концентраций отдельных аминокислот к медианам суммарной концентрации САК у водорослей

По общей сумме концентраций САК, а также по концентрации отдельных аминокислот в составе пула участки таллома отличались между собой. В летний период наибольшая суммарная концентрация САК была определена в апикальных участках таллома и составила $18,485 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$ сухой массы. В средней части таллома содержалось в 3 раза меньше, а в стволиках – в 6 раз меньше САК, чем в апексах. Рецептакулы содержали в 1,9 раза меньше САК, чем апикальные участки (рисунок 3.2). По концентрации практически всех идентифицированных САК апикальные участки превосходили среднюю часть таллома и стволик. В рецептакулах концентрации 5 САК (валин, гистидин, метионин, серин и треонин) оказались выше, чем в апексах. Но концентрация 11-ти САК была ниже в

рецептакулах, чем в апикальных участках. Пролин оказался единственной САК, которая в апексах содержалась в наименьшем количестве, по сравнению с остальными участками таллома *F. vesiculosus* (рисунок 3.2, таблица 3.3).

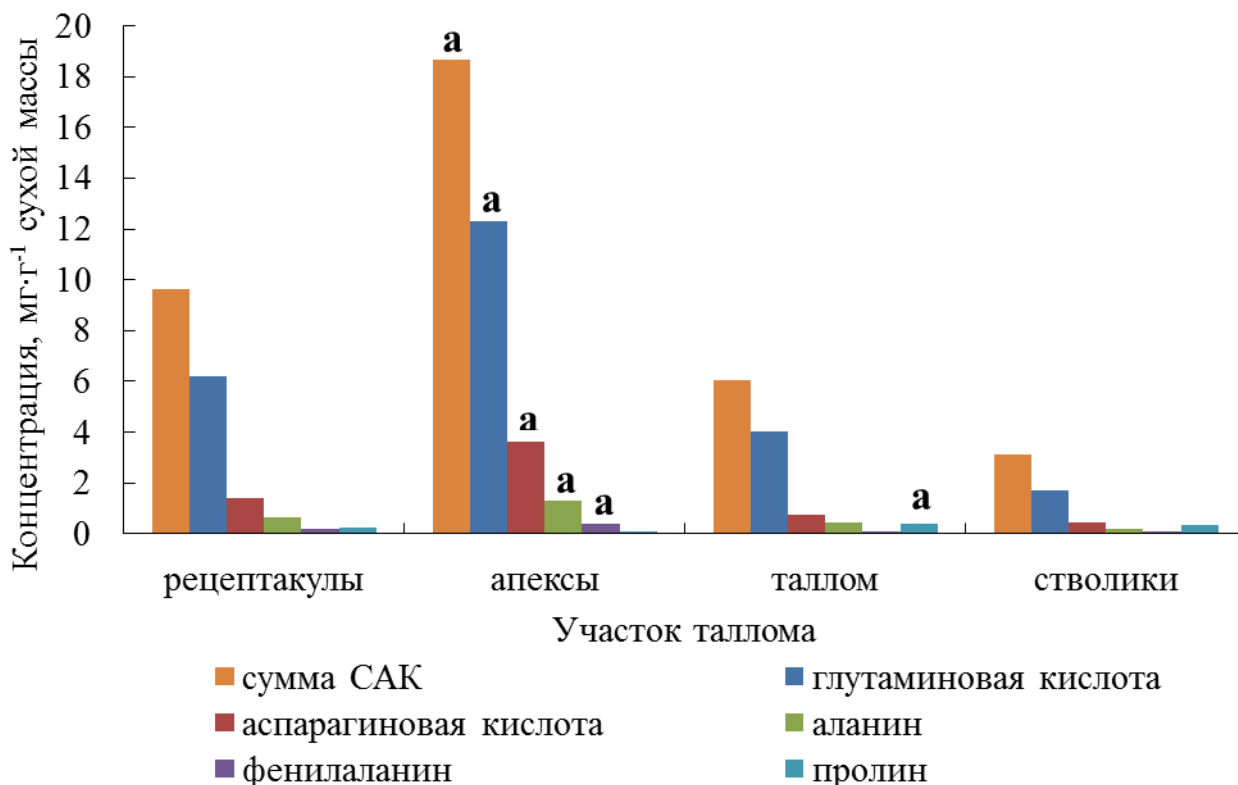


Рисунок 3.2 – Концентрация доминирующих САК и суммы САК в разных участках таллома *F. vesiculosus*. Данные представлены в виде медианы. а – наибольшие значения концентрации аминокислот, значимо отличающиеся от значений в других участках таллома

Рассчитанные значения критерия Краскела-Уоллиса показали, что разные участки таллома *F. vesiculosus* значимо отличались между собой по концентрации САК.

Для *F. vesiculosus* характерна дифференцировка тканей и внешней формы слоевища (отдельные части таллома визуально отличаются друг от друга, например, рецептакулы или стволик). Ранее проведённые микроскопические исследования показали, что таллом состоит из трёх видов тканей: коровый слой, промежуточный слой и сердцевина (рисунок 3.3) [61]. Каждый из слоёв различается по толщине, размеру клеток и плотности их расположения в

зависимости от участка таллома и, соответственно, возраста. Снаружи таллом покрыт псевдокутикулярным слоем полисахаридной природы.

В талломе *F. vesiculosus* выделяют несколько частей: апикальный участок, расположенный на вершинах ветвей, основная часть таллома в виде разветвлённого кустика, цилиндрический стволик, конусовидная или дисковидная подошва, рецептакулы [17] (рисунок 2.9). Каждая часть таллома выполняет определённые функции.

Таблица 3.3 – Концентрация САК в разных участках таллома *F. vesiculosus*, мг·г⁻¹ сухой массы водорослей*

Аминокислота	Рецептакулы	Апексы	Таллом	Стволики
Аргинин	0,037	0,080 ^a	0,027	0,017
Валин	0,091 ^a	0,077	0,030	0,020
Гистидин	0,105 ^a	0,087	0,041	0,043
Глицин	0,060	0,093 ^a	0,033	0,028
Изолейцин	0,025	0,029 ^a	0,012	0,009
Лейцин	0,021	0,034 ^a	0,014	0,009
Лизин	0,030	0,042 ^a	0,010	0,010
Метионин	0,008 ^a	0,006	0,003	0,003
Серин	0,199 ^a	0,152	0,058	0,050
Треонин	0,177 ^a	0,149	0,043	0,032
Тирозин	0,042 ^a	0,041 ^a	0,022	0,020
Триптофан	0,032	0,048 ^a	0,009	0,007
Цистин+цистеин	0,100 ^a	0,128 ^a	0,051	0,098 ^a
Гидроксипролин	0,017 ^a	0,017 ^a	0,002	0,003

Примечания

- 1) * – данные представлены в виде медианы;
- 2) ^a – наибольшие значения концентрации аминокислот, значимо отличающиеся от значений в других участках таллома

В апикальных участках находится меристематическая ткань, которая обеспечивает рост таллома. Активно протекающие ростовые процессы требуют энергии и поступления значительного количества органических веществ. Расположенные в данном участке таллома клетки не способны в должной мере обеспечить потребность зоны деления и роста клеток в органических веществах, поэтому осуществляется транспорт веществ от нижележащих участков таллома к апикальной части за счет развитой ткани сердцевины и значительному

межклеточному пространству [97, 98]. Об интенсивности физиологических процессов, происходящих в апикальной части, может свидетельствовать высокая метаболическая активность клеток (интенсивность фотосинтеза и дыхания, активность антиоксидантной системы, работа которой необходима для утилизации активных форм кислорода).

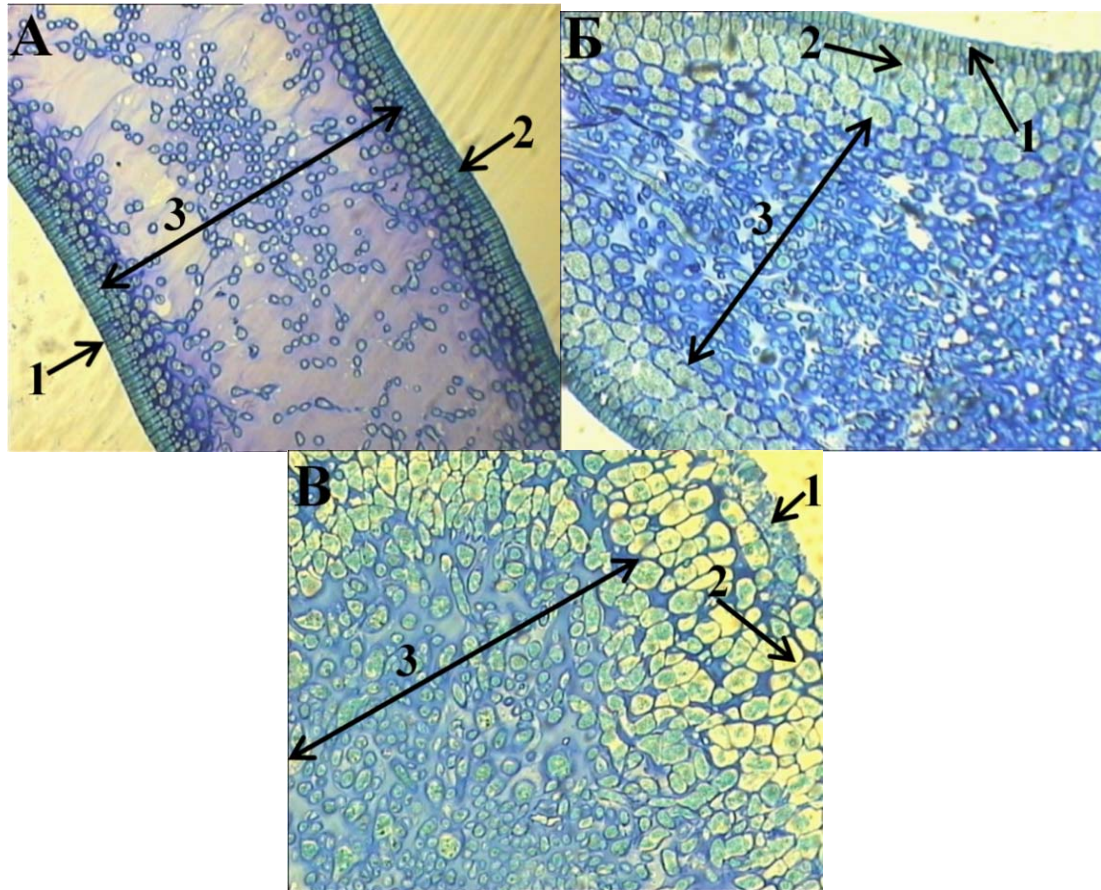


Рисунок 3.3 – Поперечный срез таллома *F. vesiculosus*: А – апикальная часть, Б – средняя часть таллома, В – ствол. 1 – коровый слой, 2 – промежуточный слой, 3 – сердцевина. Увеличение 70х. По [61]

Основная (средняя) часть слоевища является наиболее развитой по площади и размерам по сравнению с остальными участками таллома. Клетки корового слоя являются полностью сформировавшимися и активно ассимилирующими, что подтверждается максимальной концентрацией фотосинтетических пигментов в данной части таллома [61]. За счет увеличения количества структурных элементов повышается механическая прочность таллома. Физиологические процессы идут в этом участке таллома с высокой скоростью, о чём может свидетельствовать высокий уровень метаболической активности и, вероятно, именно в ней

происходит синтез большей части ассимилятов, которые затем, по мере необходимости, перераспределяются в остальные части таллома. Также средняя часть таллома может выступать в качестве временного хранилища аминокислот как строительных компонентов и/или источника азота для роста в период ограничения данного биогенного элемента в среде.

Стволик совместно с подошвой выполняют в основном механическую функцию, удерживая водоросль на субстрате. Благодаря цилиндрической форме площадь его поверхности небольшая, в отличие от средней части таллома. В основании отсутствует дифференциация клеток на слои, клетки в этой зоне располагаются плотно друг к другу, межклеточные пространства не развиты. Возможно, стволлик выполняет еще и запасающую функцию, что подтверждается достаточно высоким содержанием сухого вещества и наличием большого количества включений разнообразной формы. Физиологическая активность в этой зоне снижена, что подтверждается минимальной скоростью фотосинтеза [61].

Рецептакулы у *F. vesiculosus* являются органами размножения. В них происходит формирования концептакулов, в которых в дальнейшем формируются и созревают яйцеклетки или антерозоиды [17, 56].

Исследование показало, что состав САК в разных участках таллома одинаков, тогда как по концентрации аминокислот они различались в значительной степени: в апикальных участках и рецептакулах накапливалось больше САК, чем в средней части таллома и стволике. Обнаруженные различия в концентрации САК могут быть связаны, как отмечалось выше, с разными физиологическими функциями участков таллома, а также с транспортом и перераспределением аминокислот между участками. В апикальной части таллома более высокая концентрация САК связана с необходимостью обеспечения интенсивно идущих ростовых процессов. В средней части клетки физиологически зрелые, в них активно идут синтетические процессы, и именно за счет деятельности данной зоны будет происходить синтез и дальнейшее перераспределение САК по таллому. В стволиках, где физиологическая активность клеток снижена, в период интенсивного роста уровень САК будет

минимален из-за отсутствия потребности в них [31]. Период размножения у баренцевоморского *F. vesiculosus* приходится на лето (июнь-август) [41]. В это время происходит созревание и выход гамет. Возможно, что САК в рецептакулах используются не только в качестве строительных соединений, но и накапливаются в созревших гаметах. Этот запас аминокислот может способствовать быстрому росту и формированию проростков фукуса после оседания зиготы.

Наличие транспорта веществ по таллому показано для различных видов бурых водорослей (*Macrocystis pyrifera*, *Macrocystis integrifolia*, *Fucus vesiculosus*, *Fucus serratus*): транспорт продуктов фотосинтеза в основном направлен из зрелых участков таллома в участки, где происходит деление и рост клеток [85, 98, 204, 222]. Скорость транспорта веществ из одних участков таллома в другие зависит от интенсивности роста водоросли [158]. Транспортируются по таллому низкомолекулярные соединения, представленные в основном маннитом, аминокислотами (аланин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, серин, глицин и др.) и органическими кислотами [98, 201, 202, 204].

Данные в литературе по особенностям распределения САК по таллому у других видов водорослей немногочисленны. Например, для *Ascoseira mirabilis*, *Saccharina japonica*, *Macrocystis pyrifera* показаны различия в концентрации САК между участками таллома: у них, как и у исследуемого фукуса, более высокая концентрация САК была характерна для растущих (апикальных) участков таллома [57, 109, 111, 222]. А у *Laminaria hyperborea* с атлантического побережья Великобритании разницы в количестве САК в пластине и стволике в летний период выявлено не было [87].

У произрастающего на Белом море *Fucus vesiculosus* также было показано неравномерное распределение САК по таллому (измерения были проведены в августе). Высокая концентрация САК была определена в апикальных участках таллома и стволиках водорослей. А средняя часть таллома беломорского фукуса содержала наименьший пул САК из всех рассмотренных участков слоевища [85]. Различия в распределении САК в талломах у фукусов из Баренцева и Белого

морей могут быть связаны с условиями произрастания, а также с различиями в сроках наступления разных фаз развития водорослей. Значительное влияние на концентрацию САК в водорослях в летний период может оказывать концентрация азота в воде. Баренцевоморский фукус в районе проведения исследований не испытывает недостатка в азоте из-за наличия постоянного стока промышленно-бытовых вод [36]. А в районе сбора беломорского фукуса, вероятно, концентрация неорганических азотистых соединений была ниже в связи с наличием сезонной динамики их концентрации в среде [45, 53]. Проведённые ранее исследования показали, что высокая концентрация в воде неорганических форм азота способствует накоплению САК в водорослях [38, 77, 181, 187]. Также *F. vesiculosus* из Баренцева моря был собран в июле, в период роста водорослей. Фукус же из Белого моря собирали в августе, когда водоросли уже перешли к накоплению запасных веществ (главным образом полисахаридов), что могло привести к снижению концентрации азотистых соединений в средней части таллома.

Таким образом, в результате проведённого исследования было установлено, что разные участки таллома *F. vesiculosus* в летний период значительно отличаются между собой по концентрации САК. Распределение САК вдоль таллома *F. vesiculosus* в летний период связано с различной потребностью в аминокислотах каждой из частей. В наибольшей концентрации аминокислоты содержатся в участках, где они наиболее активно используются. По концентрации САК участки таллома располагаются в следующем порядке: апикальные участки > рецептакулы > средняя (основная) часть таллома > стволики.

3.3 Суточные изменения качественного состава и концентрации САК у *F. vesiculosus* в период полярного дня

Исследование суточной динамики качественного состава и концентрации САК у *F. vesiculosus* проводили на молодой части таллома (апикальных участках), как наиболее метаболически активной и чувствительной к изменению условий внешней среды.

В течение суток температура среды (воды и воздуха), в которой находились водоросли, менялась в пределах от 7,8 °С до 19,0 °С. Уровень воды в период наблюдений колебался от 1,4 м до 3,4 м от уровня моря (квадратурные приливы). При этом исследованные водоросли находились в воде не более полутора часов в течение приливно-отливного цикла. Несмотря на то, что на широте 69°07,1' N в период исследования наблюдался полярный день, интенсивность освещения изменялась значительно: наибольшие показатели ($3500 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) были зафиксированы в дневное время, ночью значительно снижались из-за сильной облачности ($9 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) (рисунок 3.4).

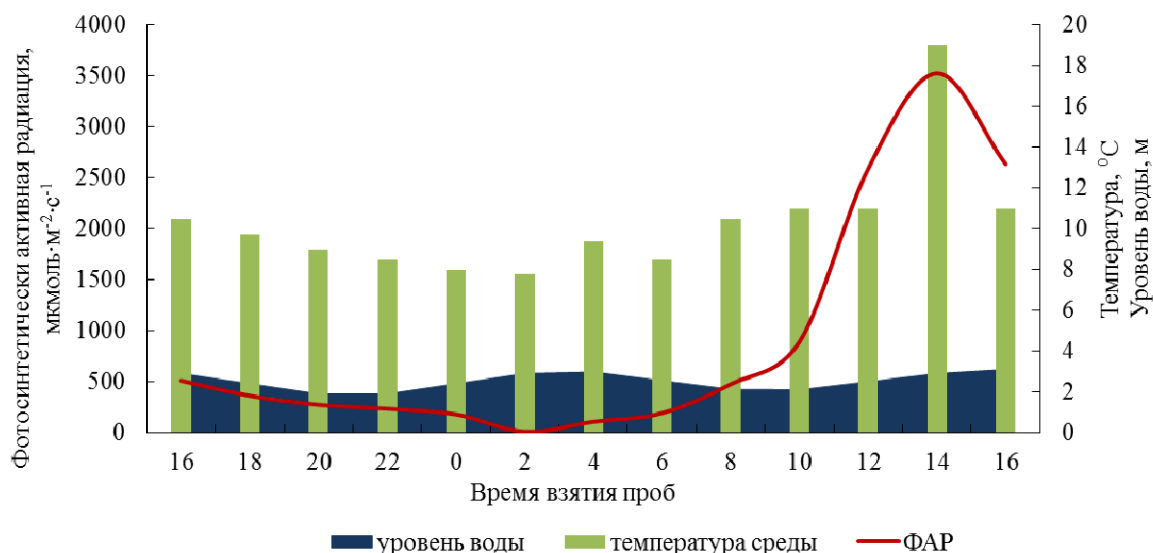


Рисунок 3.4 – Изменения параметров среды в период исследования

Значительных колебаний массовой доли воды в талломах водорослей в течение суток не происходило. Она варьировала в пределах 15 % и составляла от 71 % до 86 % от сырой массы водорослей (рисунок 3.5).

В проанализированных пробах *F. vesiculosus* показано наличие 18 САК (16 протеиногенных, 2 непротеиногенные) (таблица 3.4), что может быть обусловлено как наложением друг на друга пиков непротеиногенных и/или протеиногенных аминокислот в процессе их разделения, так и низкой их концентрацией (ниже пределов измерения прибора). Как правило, к таким относятся аминокислоты: гистидин, метионин, триптофан, цистин с цистеином.

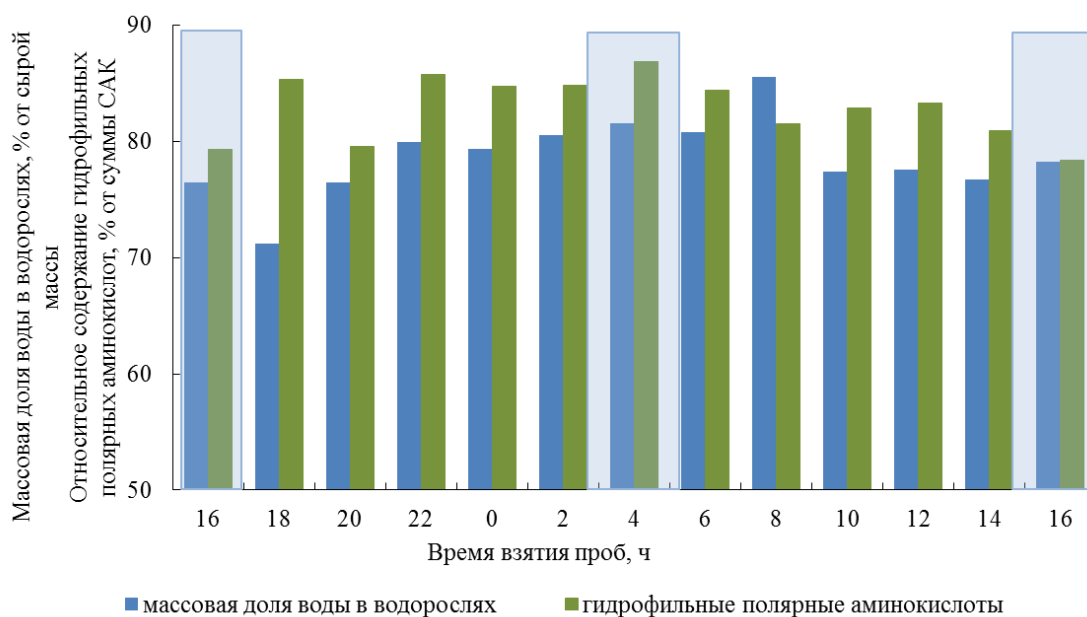


Рисунок 3.5 – Изменение массовой доли воды и относительного содержания гидрофильных полярных аминокислот в *F. vesiculosus* в течение суток. Данные представлены в виде медианы. Голубыми прямоугольниками отмечены периоды нахождения водорослей в воде

При проведении данного исследования пики триптофана, цистина с цистеином и гидроксипролина отсутствовали на электрофорограммах. Но при этом было выявлено наличие двух непротеиногенных аминокислот: орнитина и таурина. Поэтому качественный состав САК *F. vesiculosus* в данном исследовании отличается от качественного состава фукуса из предыдущих глав.

На протяжении всего периода исследований отмечались динамичные изменения относительного содержания отдельных САК, но при этом концентрации основных составляющих пул аминокислот оставались достаточно стабильными. В наибольшем количестве в составе САК у *F. vesiculosus* содержалась глутаминовая кислота (от 53,7 % до 61,2 % от суммы САК), аспарагиновая кислота (17,7-28,2 %), аланин (2,2-7,2 %), фенилаланин (2,3 - 5,3 %). Относительное содержание остальных САК в составе пула в течение исследуемого периода в основном не превышало 2 % от суммы САК.

Изменения концентрации САК в течение суток имели периодический характер: в период осушения концентрация основной массы САК увеличивалась, достигая максимума, а в прилив, при нахождении водорослей в воде, их концентрация снижалась, достигая минимума. Такая динамика была характерна как для суммы САК, так и для ряда отдельных аминокислот: глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, аланина, фенилаланина, треонина, глицина,

валина, лейцина с изолейцином, пролина, тирозина и метионина. Динамика гидрофильных полярных аминокислот была аналогична изменению суммы САК. У остальных аминокислот увеличение концентрации наблюдалось лишь когда «малая вода» приходилась на утренние часы (лизин, гистидин, таурин), или были выявлены повышения концентрации в один из периодов прилива (серин, аргинин, орнитин). Интересно, что в отлив, который пришёлся на вечернее время (22 часа), увеличение пролина оказалось более значительным (в 3,8 раза), чем в отлив утром (всего в 1,8 раза). Разница между минимальной и максимальной концентрацией САК составляла 1,5–3,0 раза и колебалась в пределах от 2,429 мг·г⁻¹ до 6,364 мг·г⁻¹ сухой массы (рисунок 3.6).

Таблица 3.4 – Концентрация САК у *F. vesiculosus* во время утреннего отлива и дневного прилива, мг·г⁻¹ сухой массы водорослей*

Аминокислота	Отлив в 8 часов (водоросли в воздушной среде)	Прилив в 16 часов (водоросли в воде)
Глутаминовая кислота	3,583 ^a	1,379
Аспарагиновая кислота	1,335 ^a	0,430
Аланин	0,398 ^a	0,160
Фенилаланин	0,208 ^a	0,128
Серин	0,125 ^a	0,061
Треонин	0,140 ^a	0,043
Глицин	0,091 ^a	0,034
Аргинин	0,067 ^a	0,037
Валин	0,065 ^a	0,025
Лизин	0,057 ^a	0,022
Изолейцин+лейцин	0,049 ^a	0,022
Пролин	0,041 ^a	0,034
Тирозин	0,037 ^a	0,013
Гистидин	0,026	0,023
Метионин	0,026 ^a	0,011
Орнитин	0,009 ^a	0,005
Таурин	0,005 ^a	0,003
Гидрофильные полярные аминокислоты	5,104 ^a	1,904
Сумма САК	6,364 ^a	2,429

Примечания

- 1) * – данные представлены в виде медианы;
- 2) ^a – наибольшие значения концентрации аминокислот, значимо отличающиеся от значений у водорослей в воде

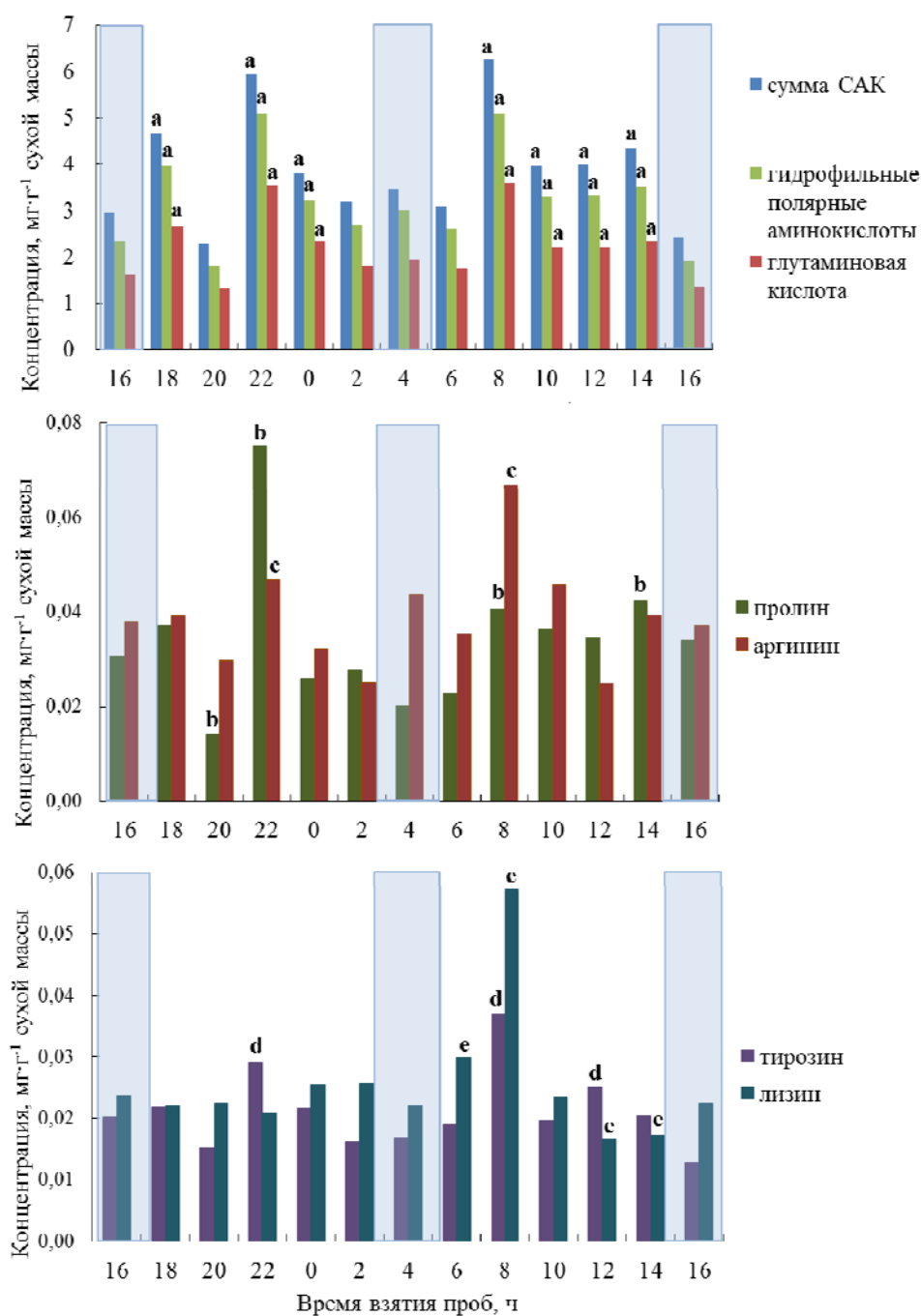


Рисунок 3.6 – Концентрации некоторых САК у *F. vesiculosus* в течение суток. Данные представлены в виде медианы. Голубыми прямоугольниками отмечены периоды нахождения водорослей в воде. Значимо отличающиеся концентрации суммы САК (а), гидрофильных полярных аминокислот (а), глутаминовой кислоты (а), пролина (b), аргинина (с), тирозина (d), лизина (е) у водорослей при осушении от концентраций у водорослей в воде

В дневное время, при повышении температуры на 8 °С, концентрация большинства отдельных САК и суммы САК менялась незначительно. Однако для части аминокислот (треонин, аргинин, метионин и серин) отмечалось повышение концентрации в 1,5–1,6 раза. Переход из воздушной среды в водную

сопровождался снижением температуры среды с 19 °С до 11 °С и уменьшением общей концентрации САК. Концентрации отдельных аминокислот менялись по-разному: аспарагиновая и глутаминовая кислоты, аланин, треонин, серин и тирозин снижались, а лизин, гистидин и таурин повышались. Анализ группы гидрофильных полярных аминокислот показал снижение их количества в период прилива.

Факторы внешней среды (температура, интенсивность освещения, уровень морской воды) оказывали значимое влияние на концентрации практически всех САК у *F. vesiculosus* в течение суток, степень влияния того или иного фактора зависела от вида аминокислоты.

Но на отдельные аминокислоты факторы среды не оказывали значимого влияния, например температура внешней среды согласно критерию Краскела-Уоллиса не оказывала значимого влияния на концентрации валина, изолейцина с лейцином, лизина, треонина и фенилаланина; изменение ФАР не оказывало значимого влияния на концентрацию лизина, а уровень морской воды не оказывал значимого влияния на концентрацию аспарагиновой кислоты, изолейцина с лейцином, лизина, пролина и фенилаланина.

Рассчитанные коэффициенты ранговой корреляции Спирмена показали, что заметные и высокие зависимости между факторами внешней среды и концентрацией практически всех идентифицированных САК в течение суток отсутствуют. Только для аланина была получена заметная корреляционная связь с температурой среды ($\rho = 0,53$) и уровнем ФАР ($\rho = 0,58$).

Наличие суточных колебаний САК было выявлено у высших наземных растений. У хвойных растений отмечалось повышение концентрации отдельных САК в вечернее и ночное время [69]. В молодых листьях гороха концентрация большинства САК оказывалась выше в светлое время суток [82]. Сходные изменения (кроме аспарагиновой кислоты) наблюдались и у сои (*Glycine max* L.). Также на САК у сои оказывало влияние наличие водного стресса [106]. Суточные изменения концентрации САК в высших растениях связывали с фотопериодом (влияние света) и водным потенциалом клеток.

Для водорослей, как водных организмов, находиться погружёнными в воду является более благоприятным для протекания различных метаболических процессов состоянием, чем нахождение в воздушной среде. Об этом свидетельствуют негативные изменения физиологических и биохимических показателей у водорослей при осушении: снижение интенсивности фотосинтеза, накопление активных форм кислорода (АФК), окисление липидов и белков [103, 115, 146, 198]. Но существуют водоросли, для которых ежедневное осушение в период отлива является необходимым условием для жизни, например, *Pelvetia canaliculata* [124, 207]. Приспособление к неблагоприятным условиям окружающей среды включает сложные ферментативные и неферментативные антиоксидантные механизмы, функционирующие для снижения негативных последствий изменения клеточной осмолярности, ионного равновесия и избытка АФК [103, 115, 143, 146].

Во время отлива в летний период литоральные водоросли подвергаются более интенсивному воздействию солнечного излучения, повышенной температуре воздуха и недостатку воды (осушению). Однако значительных потерь воды у исследуемой водоросли в течение суток не происходило. При изменении условий обитания в их клетках происходит накопление АФК, которые служат сигналом для активации генов, отвечающих за синтез веществ, обезвреживающих АФК и стабилизирующих метаболизм. Это наблюдается в условиях дефицита воды при осушении, а также при высокой инсоляции. Увеличение концентрации АФК при нахождении в воздушной среде в период отлива наблюдалось у различных видов литоральных водорослей. При этом чем дольше длился период осушения водорослей, тем существеннее оказывались потери воды и, соответственно, увеличивалось образование АФК, которые могли привести к повреждению клетки. При погружении в воду водорослей во время прилива концентрация АФК снижалась [103, 115, 146].

Для *F. vesiculosus* также характерно увеличение концентрации АФК в первые часы осушения, но при более длительном нахождении в воздушной среде (до 6 часов) происходило их снижение [198]. Считается, что способность

водорослей выдерживать значительные потери воды и быстро нейтрализовать активные формы кислорода определяет их устойчивость к длительному нахождению в воздушной среде и влияет на их распределение в литоральной зоне [103]. Скорость восстановления физиологических процессов после периодов высыхания (таких как интенсивность фотосинтеза, скорость поглощения нитратов), возможно, также является важным адаптивным механизмом, регулирующим распространение водорослей по горизонтам литорали [136, 227].

Согласно полученным результатам, смена в течение приливно-отливного цикла среды обитания водорослей с водной на воздушную и обратно сопровождается изменением концентрации САК. При этом максимум концентрации большинства САК приходился на середину отлива, когда уровень воды был минимален. Повышение уровня воды и погружение водорослей в воду приводило к снижению как суммы САК, так и большинства отдельных составляющих пул аминокислот, а также суммы гидрофильных полярных аминокислот. Переход водорослей из водной среды в воздушную сопровождается сменой условий обитания, что способствует изменению направленности метаболических процессов: происходит снижение интенсивности углеводного обмена (синтез и накопление углеводов, который интенсивен в воде) и усиление азотного обмена (синтез и накопление соединений с аминогруппой, который более интенсивно происходит в воздушной среде) [140, 115]. Увеличение концентрации аспарагиновой и глутаминовой кислот у *F. vesiculosus* в период отлива может говорить о процессах запасания азота через синтез оксалоацетата и α -кетоглутарата и усилении энергетического обмена. Можно отметить повышение в период осушения серина, что свидетельствует об активации гликолатного цикла и высвобождении молекул углекислого газа, которые могут использоваться для фотосинтеза в условиях осушения, изменяя характер течения углеводного обмена [156]. Большие концентрации аминокислот, которые синтезируются в процессе цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) (аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, пролин и др.), а также из пирувата (аланин), указывают на высокий уровень энергетического обмена. Накопление фенилаланина в период осушения

водорослей свидетельствует об активации шикиматного цикла. Следствием этого является повышение у *F. vesiculosus* концентрации полифенолов в период отлива. Пусковым механизмом к началу изменений и смене направлений метаболических процессов является повышение уровня АФК, которые выступают как сигнальные молекулы, запускающие адаптивные преобразования [115, 146, 157].

В первые 4–5 часов отлива происходило увеличение концентрации САК, что, скорее всего, связано с накоплением данных соединений в качестве структурных элементов, а также как антиоксидантных соединений, способных нейтрализовать образующиеся АФК [115, 143, 157]. Увеличение концентрации аланина, глицина, глутаминовой кислоты отмечалось в клетках *Ulva lactuca* при осушении в течение 24 часов [115]. Накопление САК у исследуемых бурых водорослей, вероятно, могло происходить как за счёт синтеза *de novo*, так и за счёт транспорта из других участков таллома в апексы [140]. Так у литоральной зелёной водоросли *Ulva prolifera* с побережья Китая выявили снижение концентрации неорганических форм азота в талломе по мере увеличения продолжительности периода осушения, что свидетельствовало об их использовании на синтез органических азотсодержащих соединений [227]. Не исключено, что в первые часы отлива происходил синтез белков и пептидов. Однако скорость данного процесса была ниже, чем синтез САК, что подтверждается накоплением аминокислот у *F. vesiculosus*.

В оставшиеся 5–7 часов при осушении отмечалось уменьшение количества САК у фукуса. Возможно, это связано с изменением активности фермента нитратредуктазы, для которого также показано снижение активности с увеличением времени осушения, что приводит к уменьшению доступности восстановленного неорганического азота и, как следствие, замедлению синтеза органических азотсодержащих соединений [227]. В этот период свободные аминокислоты могут расходоваться на синтез соединений белковой природы (структурные белки, ферменты), а также на синтез и восстановление антиоксидантов (ферментов антиоксидантной системы и соединений, например

глутатиона). Для *Ulva lactuca* также отмечено снижение концентрации САК при продолжительном осушении [115].

Погружение водорослей в воду приводило к уменьшению концентрации практически всех идентифицированных САК (рисунок 3.6, таблица 3.4). Сходное явление при погружении в воду после 24 часов осушения было отмечено и для *Ulva lactuca* [115]. Нахождение водорослей в водной среде является более благоприятным для них состоянием, что подтверждается снижением концентрации активных форм кислорода, восстановлением интенсивности фотосинтеза и нормализацией работы ферментов в клетке [90, 103, 115, 227]. После регидратации, САК, вероятно, используются для процессов регенерации повреждённых структур, а также для роста, синтеза осмопротекторов и ферментов, связанных с процессом фотосинтеза [115, 157]. Для этого могут использоваться аминокислоты, содержащиеся в клетках, синтезированные *de novo*, а также полученные в результате распада неиспользуемых белков (например, ферментов энергетического и антиоксидантного метаболизма, защитных белков) [157].

Интенсивность солнечного излучения и температура среды также оказывают влияние на синтез аминокислот у водорослей [128, 135, 170, 220]. В период отлива данные параметры среды могут негативно воздействовать на протекание физиологических процессов у водорослей. Более высокая интенсивность солнечного излучения и повышенная температура воздуха будут ускорять процесс высыхания, который приводит к образованию активных форм кислорода в клетках макрофитов во время отлива [103, 115, 146]. Это, в свою очередь, будет отражаться и на количестве САК, принимающих участие в нейтрализации окисляющих ионов и соединений.

Полученные данные показали комплексность влияния внешних факторов (интенсивность ФАР, температура, время суток, фаза приливно-отливного цикла) на динамику некоторых САК у *F. vesiculosus* в течение суток. Повышение концентрации большинства САК было более значительное, если отлив приходился на утреннее или дневное время, чем в вечернее время суток (рисунок

3.6). Именно в утренний отлив происходило существенное увеличение концентрации аланина, аргинина, треонина, лейцина с изолейцином, валина, лизина, гистидина и таурина. Тогда как в отлив вечером повышения концентраций данных аминокислот либо не наблюдалось, либо было менее выраженным. Скорее всего, это связано с тем, что интенсивность ФАР влияет на образование предшественников этих аминокислот. Солнечный свет, как источник энергии, необходим для восстановления нитратов до аммония, который стимулирует синтез пирувата. Из пирувата и аммиака образуется аланин и активирует пируваткиназу, обеспечивая усиленный синтез углеродных скелетов аминокислот [106]. При этом в результате исследования была выявлена заметная связь интенсивности ФАР и температуры на концентрацию аланина у *F. vesiculosus*. Образование таурина происходит из оксалоацетата, предшественником которого является пируват [115]. В синтезе остальных аминокислот пируват также принимает участие, но, согласно полученным данным, заметной связи аккумуляции глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, фенилаланина, глицина, тирозина и метионина у *F. vesiculosus* на изменение интенсивности солнечного излучения не наблюдалось (рисунок 3.6).

В отличие от всех остальных САК значительное увеличение свободного пролина произошло не в отлив утром, а в период осушения в вечернее время (рисунок 3.6). Это, вероятно, связано с опреснением, которое было вызвано выпавшим дождём. В ходе экспериментальных исследований показано, что у погружённых в опреснённую морскую воду (20 ‰ и 10 ‰) талломов *F. vesiculosus* в апикальных участках концентрация свободного пролина возрастает в 10,5–13,5 раз уже за первые 3 часа воздействия (см. глава 3.7.2).

Активное участие свободного пролина в осморегуляции показано для разных видов водорослей. Так, у *Ulva pertusa* и *Pyropia haitanensis* при нахождении в воде пониженной солёности (0–6,6 ‰) концентрация пролина снижалась, а у *Gracilaria corticata* – повышалась [128, 145, 219]. Проведённые нами исследования концентрации САК в различных участках таллома и их

сезонных изменений показали, что при понижении солёности воды концентрация свободного пролина в талломе *F. vesiculosus* увеличивается (см. главы 3.4, 3.6).

Еще одним фактором, влияющим на концентрацию САК, является температура. В нашем исследовании было отмечено, что при повышении температуры в дневное время лишь у небольшого количества аминокислот (у треонина, серина, аргинина и метионина) происходило увеличение концентрации. Возможная причина – кратковременность периода воздействия высокой температуры воздуха. Высокая температура в период отлива будет ускорять потерю воды талломами водорослей, тем самым понижая осмотический потенциал и изменяя ионное равновесие в клетке. Это, в свою очередь, будет стимулировать образование активных форм кислорода, а также замедлять жизненно важные физиологические процессы в клетках водорослей [198, 227]. Изменение концентрации САК в этих условиях могло быть связано с их использованием на синтез ферментов и антиоксидантов, а также специализированных белков, обеспечивающих жизнедеятельность клеток водорослей. При погружении водорослей в воду происходило снижение температуры среды обитания, что вызвало понижение концентрации суммы САК, доминирующих аминокислот (глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, аланина), а также треонина, серина, тирозина. В этот же период произошло повышение лизина, гистидина и таурина.

В течение суток наблюдалось изменение концентрации гидрофильных полярных аминокислот, но их соотношение менялось незначительно, от 78,4 % до 86,8 % от суммы САК, независимо от того, находились водоросли в воде или на воздухе. Вероятно, высокое относительное содержание гидрофильных полярных аминокислот в клетках *F. vesiculosus* в июле может быть связано с возможными значительными потерями воды талломами водорослей из-за действия высоких температур в летний период.

Статистический анализ показал, что факторы среды оказывают влияние на суточную динамику САК, но только для аланина наблюдалась заметная корреляционная связь концентрации с температурой среды и уровнем ФАР в

течение суток. Возможно, это связано с коротким путём синтеза данной аминокислоты и небольшими энергетическими затратами, что позволяет быстро увеличить её концентрацию даже при непродолжительных благоприятных условиях. На остальные САК, мы предполагаем, основное влияние оказывает совместное воздействие факторов, которые, усиливая или ослабляя действие друг друга, влияют на физиологическое состояние водорослей. Поэтому выделить определённый фактор, который бы оказывал значительное влияние на метаболизм САК в течение суток, нельзя.

Значительные изменения факторов среды в период приливно-отливного цикла (таких как температура, интенсивность освещения, опреснение в виде осадков) будут способствовать бóльшим колебаниям концентрации САК, поскольку для поддержания гомеостаза может происходить как интенсивный синтез отдельных САК (например, пролина во время отлива при наличии осадков), так и их использование на синтез более сложных соединений (например, специфических белков).

Для каждого сезона будет характерен свой диапазон суточных изменений концентрации САК (медианы и максимальные/минимальные значения), поскольку разные сезоны отличаются не только факторами среды (температура, интенсивность и продолжительность освещения и др.), но и сезонными колебаниями метаболической активности клеток и общей направленностью метаболических процессов (синтез белка в фазу роста или полисахаридов в фазу запасания веществ).

Таким образом, показано, что у *F. vesiculosus* в течение суток наблюдаются колебания концентрации САК, вызванные сменой среды обитания и изменением направленности метаболических процессов (активация шикиматного пути, ЦТК, продукты которого участвуют в запасании азота, гликолатного цикла, как возможного источника углекислого газа – субстрата для процесса фотосинтеза). Минимальная концентрация САК выявлена у погружённых в воду водорослей, максимальная – у осушённых во время отлива. Изменений качественного состава САК у *F. vesiculosus* в течение суток выявлено не было.

3.4 Сезонные изменения качественного состава и концентрации САК у *F. vesiculosus*

Исследование проводили на водорослях, которые в течение года ежемесячно собирали из одного места произрастания (район Абрам-мыса, Кольский залив). В данной работе определение САК проводили в средней части таллома, так как она является морфологически и физиологически зрелым участком, формирует большую часть слоевища исследуемого вида и в ней синтезируется основное количество содержащихся в талломе биохимических соединений.

В средней части таллома бурой водоросли *F. vesiculosus* было обнаружено 20 САК (рисунок 3.7, таблица 3.5), доминирующими были глутаминовая, аспарагиновая кислоты, аланин и пролин. В течение года суммарное относительное содержание данных аминокислот изменялось от 79 % (апрель) до 95 % (март и июнь) от суммы САК. Преобладала глутаминовая кислота (от 33,9 % до 70,6 % от суммы САК), далее следуют аспарагиновая кислота (8,3–22,5 %), аланин (4,3–17,2 %) и пролин (3,6–24,1 %). Смены доминирующих аминокислот в составе пула САК в данном участке таллома в течение года не происходило. Относительное содержание остальных аминокислот в течение года в целом не превышало 2 % от суммы САК. Только для пяти аминокислот отмечалось повышение концентрации выше 2 %, которое наблюдалось в отдельные месяцы: фенилаланин увеличивался с декабря по февраль, в апреле и октябре, цистин с цистеином – в апреле и октябре, серин – в январе, а аргинин – в сентябре (таблица А.1). В наименьшей концентрации в составе САК у *F. vesiculosus* содержались метионин и гидроксипролин. Концентрация этих САК в течение года не превышала $0,009 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$ сухой массы водорослей (таблица 3.5).

Характер изменений суммы САК в течение года совпадал с динамикой концентрации глутаминовой кислоты, поскольку её относительное содержание в пуле САК у *F. vesiculosus* наибольшее (рисунок 3.7, таблица А.1). Схожие тенденции изменений наблюдались у аргинина и гистидина; валина и серина;

тирозина, фенилаланина и цистина с цистеином; изолейцина, глицина, лейцина и треонина; триптофана и лизина (таблица 3.5). Изменение суммы гидрофильных полярных аминокислот в течение года также совпадало с динамикой концентрации глутаминовой кислоты, которая входит в состав гидрофильных полярных аминокислот (рисунок 3.7).

В течение года общая концентрация САК была минимальной в январе и максимальной в июне, разница составляла 4,6 раза. Наименьшие колебания были выявлены у серина (в 1,7 раза), а наибольшие – у фенилаланина (в 24,7 раза) (рисунок 3.7, таблица 3.5).

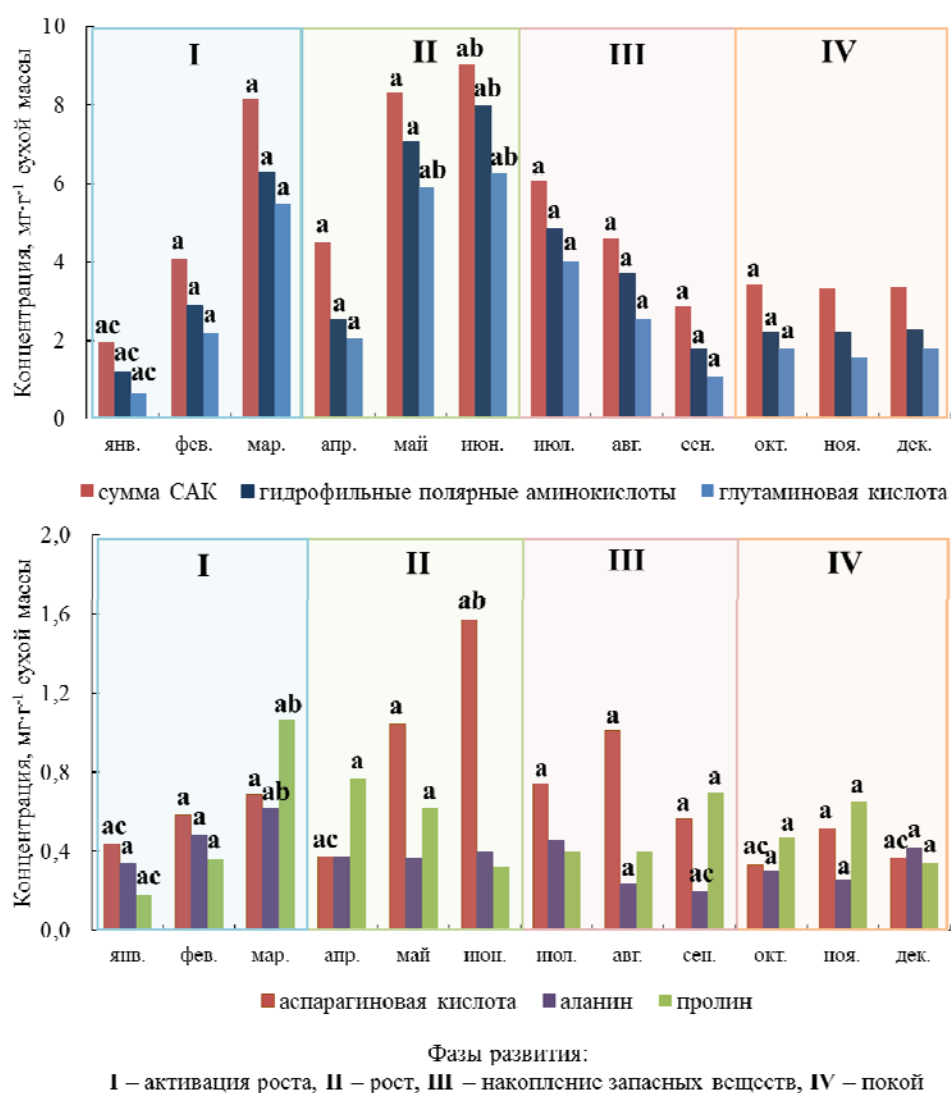


Рисунок 3.7 – Динамика доминирующих САК и суммы САК в средней части таллома *F. vesiculosus* в течение года. Данные представлены в виде медианы. а – значительно отличающиеся концентрации аминокислот и их групп у водорослей от соседних значений, b –наибольшие концентрации аминокислот за год, с – наименьшие концентрации в течение года

Таблица 3.5 – Концентрация САК в средней части таллома *F. vesiculosus* в течение года, мг·г⁻¹ сухой массы водорослей*

Аминокислота	янв.16	фев.16	мар.16	апр.16	май.16	июн.16	июл.16	авг.16	сен.16	окт.16	ноя.16	дек.16
Аргинин	0,015 ^a	0,023 ^a	0,037 ^a	0,013 ^{ac}	0,040 ^a	0,047 ^a	0,027 ^a	0,043 ^a	0,066 ^{ab}	0,030 ^a	0,042 ^a	0,034 ^a
Валин	0,020 ^c	0,024 ^c	0,030	0,034	0,033	0,041 ^{ab}	0,029 ^a	0,026	0,022 ^{ac}	0,033 ^a	0,023	0,026
Гидроксипролин	0,002	0,003	0,005	0,007	0,009	0,007	0,002	0,005 ^a	0,003	0,003	0,006	0,004
Гистидин	0,033 ^a	0,051 ^a	0,063 ^a	0,019 ^a	0,065 ^a	0,078 ^{ab}	0,040 ^a	0,058 ^a	0,045 ^a	0,011 ^{ac}	0,052 ^a	0,047 ^a
Глицин	0,017 ^{ac}	0,023 ^a	0,020 ^a	0,040 ^{ab}	0,027 ^a	0,032	0,033	0,023	0,021	0,033 ^a	0,021 ^a	0,024 ^a
Изолейцин	0,009	0,008	0,008	0,013	0,010	0,012	0,012	0,013	0,009	0,014 ^{ab}	0,010 ^a	0,011 ^a
Лейцин	0,009	0,009	0,006 ^{ac}	0,022 ^{ab}	0,008	0,009	0,013	0,013	0,006 ^{ac}	0,020 ^a	0,008 ^a	0,015 ^a
Лизин	0,014 ^a	0,011 ^a	0,006	0,007	0,011	0,014	0,010 ^a	0,019 ^{ab}	0,005 ^{ac}	0,020 ^a	0,007 ^a	0,011 ^a
Метионин	0,002	0,003	0,001 ^{ac}	0,004	0,002	0,005 ^{ab}	0,003 ^a	0,004 ^a	0,002	0,003	0,002	0,002
Серин	0,052	0,052	0,054	0,055	0,054	0,064 ^{ab}	0,058 ^a	0,048 ^c	0,049 ^c	0,056	0,058	0,056
Треонин	0,022 ^c	0,022 ^c	0,021 ^c	0,049 ^{ab}	0,026 ^a	0,039	0,043	0,032	0,033	0,044 ^a	0,036 ^a	0,026 ^a
Тирозин	0,015	0,017	0,005 ^{ac}	0,062 ^{ab}	0,008	0,009	0,023 ^a	0,017 ^a	0,007 ^a	0,035 ^a	0,006 ^{ac}	0,016 ^a
Триптофан	0,015	0,014	0,012	0,004 ^{ac}	0,008 ^a	0,013 ^a	0,008 ^a	0,017 ^{ab}	0,014	0,015	0,011	0,012
Фенилаланин	0,081 ^a	0,151 ^a	0,024 ^a	0,340 ^{ab}	0,040 ^a	0,020 ^a	0,099 ^a	0,035 ^a	0,016 ^{ac}	0,148 ^a	0,014 ^{ac}	0,124 ^a
Цистин+цистеин	0,031 ^{ac}	0,060 ^a	0,044 ^a	0,269 ^{ab}	0,088 ^a	0,072 ^a	0,053 ^a	0,039 ^a	0,031 ^{ac}	0,070 ^a	0,030 ^{ac}	0,054

Примечания

- 1) * – данные представлены в виде медианы;
- 2) ^a – значимо отличающиеся концентрации аминокислот и их групп у водорослей от соседних значений;
- 3) ^b – наибольшие концентрации аминокислот в течение года;
- 4) ^c – наименьшие концентрации аминокислот в течение года

Согласно рассчитанным значениям критерия Краскела-Уоллиса и p -значениям концентрации 14 САК значительно изменялась в зависимости от сезона года (медианы за 3 месяца каждого сезона года). Тогда как для гистидина, лейцина, серина, тирозина и цистина с цистеином медианы концентрации за разные сезоны года не имели значимых различий. В весенний и летний сезоны медианы концентрации аспарагиновой кислоты, валина, гидроксипролина, глицина, глутаминовой кислоты, лизина, метионина и пролина были выше, чем в осенний и зимний периоды года. Для других САК наибольшие медианы концентрации за сезон были определены не только весной и летом, но также осенью или зимой (таблица А.2).

На основании годовой динамики САК у *F. vesiculosus* можно выделить несколько периодов, отличающихся по концентрации САК: зимне-весенний, весенне-летний, летне-осенний и осенне-зимний.

В зимне-весенний период, с января по март, происходило накопление общего пула САК и доминирующих аминокислот в талломах водорослей: концентрация глутаминовой кислоты возросла в 8,2 раза, аспарагиновой кислоты - в 1,6 раза, аланина - в 1,8 раза (максимально за весь период наблюдений), пролина - в 5,9 раза (максимально за весь период наблюдений) (рисунок 3.7). Повышалась концентрация и других аминокислот – аргинина, гистидина, валина, треонина и гидроксипролина (таблица 3.5). Относительное содержание гидрофильных полярных аминокислот постепенно увеличивалось с 60,3 % до 76,7 % от суммы САК (таблица А.1).

В весенне-летний период (с апреля по июнь) наблюдались значительные изменения концентрации САК. В апреле концентрация доминирующих аминокислот резко снизилась (в 1,7–2,7 раза в апреле по сравнению с мартом, а пролина – в 1,4 раза), снизилась также и концентрация аргинина, гистидина и триптофана (рисунок 3,7, таблица 3.5). Повышение отмечено для таких аминокислот как глицин, лейцин, изолейцин, метионин, тирозин, треонин, фенилаланин и цистин с цистеином.

В период с мая по июнь наблюдалось накопление САК: для глутаминовой и аспарагиновой кислот отмечены максимальные концентрации за год ($6,291 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$ и $1,577 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$ сухой массы соответственно), увеличилась концентрация аргинина, гистидина, лизина, серина и триптофана (рисунок 3.7, таблица 3.5). На фоне повышения общей концентрации, до зимних значений снизилась концентрация пролина и аланина (рисунок 3.7), менее интенсивно - концентрация глицина, изолейцина, лейцина, тирозина, треонина, фенилаланина и цистина с цистеином (таблица 3.5). Относительное содержание группы гидрофильных полярных аминокислот увеличилось с 55,7 % в апреле до 88,6 % от суммы САК в июне, достигнув максимальных значений за год (таблица А.1).

Для летне-осеннего периода (с июля по сентябрь) отмечено уменьшение как общей концентрации САК, так и большинства отдельных аминокислот. Из доминирующих САК снизились в 2,0–5,6 раза по сравнению с летним периодом концентрации глутаминовой и аспарагиновой кислот, аланина. Для пролина отмечена обратная тенденция – увеличение концентрации в 2,2 раза (рисунок 3.7).

Для остальных аминокислот также отмечено снижение концентрации, однако характер изменений различался: валин, серин, цистин с цистеином, глицин, изолейцин и метионин уменьшались постепенно, а треонин, тирозин, фенилаланин, лейцин, гистидин, лизин, гидроксипролин – скачкообразно (с повышением в июле – августе и снижением в сентябре). Так же, как и пролин, аргинин и триптофан к сентябрю накапливались, по сравнению с июньскими значениями (таблица 3.5). При этом относительное содержание гидрофильных полярных аминокислот в этот период снижалось с 80,0 % до 62,1 % от суммы САК (таблица А.1).

Осенне-зимний период (с октября по январь), по сравнению с другими сезонами, характеризуется относительно низкой общей концентрацией САК. При этом для большинства САК и их суммы было характерно скачкообразное изменение концентрации в этот период. Суммарная концентрация САК в октябре возрастала по сравнению с сентябрем, и составляла $3,297\text{--}3,435 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$ сухой массы до января, а в январе снизилась до минимальных значений за год ($1,962 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$

сухой массы). При этом треть от суммарной концентрации САК приходилась на долю глутаминовой кислоты – $0,662 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$ сухой массы (минимальная концентрация за год) (рисунок 3.7). Концентрация аланина постепенно повышалась к декабрю в 2,1 раза, а в январе снижалась в 1,2 раза. Концентрация аспарагиновой кислоты и пролина в октябре снижалась по сравнению с сентябрьскими значениями, в ноябре повышалась в 1,4-1,6 раза. В декабре и январе происходило постепенное снижение концентрации как аспарагиновой кислоты, так и пролина (рисунок 3.7). Изменение концентрации большей части остальных САК также происходило скачкообразно в осенне-зимний период. Концентрация серина в этот период увеличивалась, а триптофана – снижалась (таблица 3.5). Относительное содержание гидрофильных полярных аминокислот существенно не менялось с октября по декабрь (65,0–67,2 % от суммы САК), а в январе снизилось до 60,3 % от суммы САК (таблица А.1).

В течение года у *F. vesiculosus* выделяют 3 основные фазы развития: фаза покоя (осень-зима), фаза роста (весна и начало лета) и фаза накопления запасных веществ (лето) [34, 197]. На основании проведённого исследования можно дополнительно выделить четвертую фазу, которая является переходной между фазой покоя и фазой роста. Эта фаза приходится на период зима-весна и может быть обозначена как «фаза активации роста». Остальные фазы совпадают с выделенными ранее по времени наступления [32].

Каждая фаза развития *F. vesiculosus* характеризуется определённым уровнем обмена веществ, который складывается из метаболической активности клеток (МАК), интенсивности процессов фотосинтеза, скорости роста, наличия и развития органов размножения. Изменение скорости метаболических процессов направлено на успешное прохождение определённых этапов в развитии организма: весной на поддержание активного роста таллома, летом и осенью на осуществление процессов размножения и подготовку к зимнему периоду, зимой – на поддержание метаболизма и обеспечение целостности организма в наиболее неблагоприятный для растений период [41, 197]. Вероятно, что и САК, как

компоненты метаболома, совместно с другими физиологическими изменениями в организме способствуют выполнению сезонных задач в развитии водорослей.

На осенне-зимний период у *F. vesiculosus* приходится фаза покоя (сентябрь-февраль), которая характеризуется низкой скоростью роста таллома, и началом развития рецептакулов (органов размножения) [41, 165]. МАК и интенсивность фотосинтеза осенью постепенно снижаются и зимой минимальны. С окончанием полярной ночи, в конце января и начале февраля, физиологические процессы усиливаются (рост, интенсивность фотосинтеза и т.д.) [41, 62, 197, 215]. Сходный характер изменений имеет и динамика САК, в частности минимальные концентрации отмечены для глутаминовой, аспарагиновой кислот и аланина, что, вероятно, связано с низкой интенсивностью метаболизма и фотосинтеза, а также с неиспользованием САК в ростовых процессах. Таким образом, фаза покоя характеризуется также минимальными концентрациями САК.

Постепенная активация метаболизма (начиная с января по март), которую мы выделяем в фазу активации роста, сопровождается следующими физиологическими изменениями: увеличением концентрации глутаминовой и аспарагиновой кислот, аланина и пролина. Повышение концентрации САК в талломе, вероятно, связано с подготовкой к фазе роста, поскольку они являются необходимым компонентом для построения белков. Тенденция изменения САК с января по март совпадает с подготовкой водорослей к периоду роста и переходом от фазы покоя к фазе роста. Эти изменения сопровождаются повышением МАК и интенсивности фотосинтеза [41, 197].

С марта по июнь у баренцевоморского *F. vesiculosus* длится фаза роста, которая сопровождается интенсивным развитием рецептакулов, максимальными значениями интенсивности фотосинтеза (апрель-май) [41, 165], увеличением МАК, что указывает на интенсивно идущие ростовые процессы [197]. Маркером ускорения интенсивности метаболизма может служить и характерная динамика САК (изменения их концентрации и соотношения в разных участках слоевища), например, происходит перераспределение САК между средней частью таллома и растущими участками (апексами).

Аминокислоты рассматриваются в качестве резервных источников азота необходимого для синтеза белка и других соединений для формирования новых тканей. В ходе ЦТК синтезируются α -кетоглутарат и оксалоацетат, которые являются предшественниками для этих аминокислот. Обеспечение молодых тканей азотом достигается его транспортом, перераспределением между участками таллома. Подобная возможность была показана для видов рода *Fucus*, у которых фотоассимиляты (в том числе и САК) транспортируются в апикальные участки таллома из средней (основной) части таллома [97, 98], при этом чем интенсивнее рост таллома, тем скорость транспорта будет выше [158]. В качестве транспортных форм азота будут использоваться доминирующие аминокислоты: глутаминовая и аспарагиновая кислоты, а также пролин и аланин. Также у бурых водорослей в качестве транспортной формы азота по таллому выступают глицин и серин [98, 201, 204]. В мае и июне концентрации глутаминовой и аспарагиновой кислот значительно возросли, после снижения в апреле, несмотря на продолжающийся рост талломов водорослей. Это может свидетельствовать о постепенном снижении скорости роста и уменьшении потребности в аминокислотах, а также о более благоприятных условиях для синтеза и аккумуляции САК с целью подготовки к периоду дефицита азота в окружающей среде, который приходится на летнее время.

Несмотря на то, что в южном колене Кольского залива из-за наличия хозяйственной деятельности азот в прибрежной воде присутствует всегда, в конце весны и летом, в период интенсивного роста макрофитов и фитопланктона, возрастает потребление азота, что вызывает снижение его концентрации в воде [36]. Ранее было показано, что в условиях высоких концентраций азота в среде обитания водоросли способны его накапливать в виде САК (глутаминовой, аспарагиновой кислоты, аланина, амидов, пролина, фосфосерина) и при дефиците азота использовать его на синтетические процессы [77, 181, 187]. В талломе *F. vesiculosus* наибольшая часть азота представлена в виде органических соединений белковой природы [4]. Эту способность можно рассматривать как один из механизмов адаптации, способствующих сохранению высоких скоростей

роста и возможности формирования большего количества репродуктивных клеток (спор, гамет) в период дефицита азота в среде.

Подготовка организма к зимнему периоду выделяется в фазу накопления запасных веществ, которая длится с июля по сентябрь. Для этого периода характерно замедление вегетативного развития (июль-август) и завершение периода размножения (август-сентябрь), который проявляется в массовом выходе половых продуктов в окружающую среду, разрушении рецептакулов и перестройке метаболизма с ростовых процессов на подготовку к зимнему периоду [41, 197]. В августе отмечался максимальный за год уровень МАК [197], повышалась массовая доля сухого вещества и полисахаридов [185]. Для САК наблюдалась немного другая картина: среди доминирующих аминокислот уменьшалась концентрация глутаминовой и аспарагиновой кислот, а также аланина, тогда как концентрация пролина немного повышалась. Можно предположить, что в этот период они расходуются на развитие репродуктивных клеток. Снижение концентрации ряда САК в этот период может быть связано с усилением синтеза углеводов, а не азотсодержащих веществ. Также на уменьшение концентрации САК может повлиять снижение в среде неорганических форм азота, что обуславливает использование САК в качестве резервных источников азотистых соединений [36]. Так как пролин у водорослей участвует в процессах осморегуляции и способствует повышению устойчивости к низким температурам [178, 180, 216], то повышение его концентрации в этот период может быть обусловлено увеличением количества осадков (дождей) в период отливов, а также наличием перепадов температур. Как было показано, значительные температурные колебания способствуют повышению свободного пролина и замедляют рост водорослей [220].

Сравнение полученных нами данных и данных из литературных источников [38, 59, 111, 126, 211] показали сходный характер сезонных изменений качественного состава и концентрации САК у водорослей. У баренцевоморских фукоидов, у фукусовых водорослей Белого моря, антарктических бурой водоросли *Ascoseira mirabilis* и зелёной водоросли *Prasiola crispa*,

дальневосточной *Saccharina japonica*, красной водоросли *Gracilaria vermiculophylla* с побережья Франции [38, 59, 111, 126, 211] характерно преобладание в составе САК глутаминовой и аспарагиновой кислот, аланина, пролина, а также глицина, треонина и таурина. В то же время, для *Palmaria palmata* с побережья Великобритании, водорослей с южного побережья Средиземного моря, японской *Sargassum fusiforme* характерна обратная тенденция динамики САК: высокая концентрация в осенне-зимний период и низкая в весенне-летний [134, 171, 173, 179]. Вероятно, сезонные изменения САК связаны с внешними факторами среды, а также с направленностью метаболических процессов в разные фазы развития водорослей. Накопление САК у некоторых видов водорослей в осенне-зимний период может быть связано с аккумуляцией их в качестве резервных источников азота, прохождением вегетативного цикла развития или размножением в этот период года, а также с участием аминокислот в защите клеток при воздействии отрицательных температур [126, 173, 179].

Сроки наступления той или иной фазы развития водорослей будут определяться совокупным воздействием абиотических факторов. Например, преобладание в весенний период низких температур воды и воздуха, наличие облачности, которая уменьшает интенсивность ФАР, высокая интенсивность УФ-радиации, могут сдвигать сроки наступления вегетационного периода. Это в свою очередь может вызвать смещение сроков начала интенсивного роста, и, как следствие, приводить к более позднему завершению периода размножения водорослей летом [41]. Увеличение доли штормов в летний период (фаза роста и фаза подготовки к зимнему периоду) может снижать репродуктивный потенциал популяции за счет снижения эффективности процессов оплодотворения, оседания и дальнейшего развития проростков. В целом, в перспективе это может отразиться на развитии и стабильности фитоценозов, на процессах их обновления (восстановления).

Из ряда абиотических факторов можно выделить два доминирующих, определяющих развитие водорослей: это солёность и температура среды. При исследовании динамики САК в *F. vesiculosus* Баренцева моря были получены

данные по изменению их концентрации в талломах водорослей. В месте отбора проб (район Абрам-мыса 68°58,5' N, 33°01,6' E) с весны до начала осени солёность морской воды не превышала 20 ‰. Наименьшие значения по солёности воды были отмечены в мае и июне. В зимние месяцы и в октябре данный показатель составлял от 20 ‰ до 30 ‰ (таблица 3.6). Полученные данные по динамике солёности прибрежных вод являются характерными для южного колена Кольского залива [37]. Наибольшие температуры как воды, так и воздуха были зафиксированы с июня по август. Минимальные температуры для воды наблюдались с января по март, а температура воздуха опускалась ниже нуля с ноября по апрель (таблица 3.6).

Таблица 3.6 – Параметры среды на момент сбора проб водорослей в 2016 г. в районе Абрам-мыса

Месяц	Параметр		
	солёность, ‰	температура воды, °C	температура воздуха, °C
Январь	30	- 1,5	- 30
Февраль	25	- 0,55	- 4,4
Март	18,5	- 0,1	- 3,8
Апрель	17	1,3	- 1,55
Май	7	7,6	15,3
Июнь	7,5	14,2	18,9
Июль	12,5	12,4	13,8
Август	15	11,1	11,7
Сентябрь	17	9,5	10,7
Октябрь	25	4,9	3,2
Ноябрь	17	2,4	- 1,6
Декабрь	20	2,3	0,5

Факторы среды (солёность морской воды, температура воздуха) оказывают значимое влияние на концентрацию САК у *F. vesiculosus* согласно критерию Краскела-Уоллиса. Рассчитанные коэффициенты ранговой корреляции Спирмена показали наличие положительной зависимости между температурой воздуха и концентрацией глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, аргинина, валина, глицина, изолейцина, метионина и гидрофильных полярных аминокислот, а также выявили отрицательную зависимость между солёностью морской воды и концентрацией глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, аргинина, валина,

гидроксипролина и гидрофильных полярных аминокислот. Суммарная концентрация САК также находилась в положительной зависимости от температуры воздуха и отрицательной зависимости от солёности воды (таблица А.3).

Наличие положительной корреляционной связи между концентрацией отдельных САК и температурой воздуха свидетельствует о благоприятном влиянии более высоких значений температуры на накопление этих аминокислот.

Согласно проведённым ранее исследованиям, для большей части водорослей, произрастающих в Баренцевом море, оптимальной для роста является температура 10–15 °С [10]. У исследуемого *F. vesiculosus* концентрация большинства САК и их суммы в основном выше при температурах благоприятных для роста (рисунок 3.7, таблицы 3.5, 3.6). Исключение составляет март, когда при низких температурах воздуха наблюдалась высокая концентрация САК. Это, вероятно, связано с накоплением САК в средней части таллома до начала интенсивного роста и использования их в качестве структурных веществ в период роста. Повышение САК в определённом диапазоне температур свидетельствует о более интенсивных процессах синтеза данных соединений по сравнению со скоростями их расходования.

У разных видов водорослей диапазон благоприятных для накопления САК температур будет различный. Для зелёной водоросли *Ulva fasciata* характерна наибольшая концентрация САК при оптимальной для роста температуре [170], как и у исследованного *F. vesiculosus*. А для *Ulva pertusa* повышение температуры среды на 10 °С выше оптимальной для роста приводило к увеличению САК в 2,2 раза [128]. Для антарктической *Prasiola crispa* и северо-атлантической *Mastocarpus stellatus* низкие температуры в природных условиях способствовали повышению свободного пролина [118, 126]. Показано, что для *P. crispa* и *M. stellatus* свободный пролин выполняет роль криопротектора и повышает устойчивость к замерзанию. При значительном понижении температуры среды в январе 2016 года у исследуемого *F. vesiculosus* концентрация САК, в том числе свободного пролина, не увеличилась, а снизилась (рисунок 3.7, таблица 3.6).

Можно сделать вывод, что напрямую САК не принимают участие в защите *F. vesiculosus* от воздействия отрицательных температур, но могут являться предшественниками для синтеза криопротекторов (белков теплового шока) в холодный период года.

Интересно, что наибольшие концентрации пролина и аланина были отмечены в марте. Вероятно, это может быть связано с участием данных аминокислот в защитных реакциях водорослей в ответ на неблагоприятные внешние факторы. Весной и осенью накопление пролина и аланина может быть связано с колебаниями температуры среды и уровня освещения. Показано, что в листьях ячменя концентрация свободного пролина повышается при выращивании на свету при низкой температуре (5 °C) [88]. Низкие температуры в сочетании со светом высокой интенсивности способствуют увеличению концентрации активных форм кислорода. САК, в частности пролин и аланин, могут выступать в роли антиоксидантов. Определено, что свободный пролин в клетках растений участвует в инактивации активных форм кислорода, формирующихся при различных стрессовых воздействиях [130, 168, 199].

Между концентрацией глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, аргинина, валина, гидроксипролина, суммой гидрофильных полярных аминокислот и солёностью морской воды было определено наличие отрицательной корреляционной связи. Это свидетельствует о том, что распреснение прибрежных вод способствует аккумуляции данных аминокислот в таллومه *F. vesiculosus*. Отсутствие зависимости между концентрацией остальных САК и солёностью воды говорит о том, что данный фактор не является определяющим для их концентрации, и его воздействие проявляется лишь как часть комплекса факторов внешней среды. Вполне возможно присутствие немонотонной связи между концентрацией отдельных САК и солёностью морской воды.

Влияние морской воды пониженной солёности на концентрацию САК в водорослях во многом зависит от видовых особенностей объекта, а также от продолжительности воздействия. Воздействие распреснённой морской воды на

Ulva pertusa и *Piropia haitanensis* приводило к снижению свободного пролина, а на *Gracilaria corticata* наоборот способствовало увеличению в 2 раза [128, 145, 219]. Понижение солёности морской воды влияет не только на концентрацию пролина у водорослей. Воздействие сильно разбавленной морской воды (4 ‰) вызвало снижение концентрации доминирующих САК у *Ectocarpus siliculosus*, но при этом концентрация ароматических аминокислот и аминокислот с разветвлённой боковой цепью увеличилась [99]. У *Cladophora vagabunda* опреснение среды произрастания способствовало повышению концентрации глутаминовой кислоты и лизина, но в то же время и снижению аспарагиновой кислоты, треонина, валина, аргинина, глицина и гистидина [193].

F. vesiculosus на побережье Баренцева моря встречается в местах с различной солёностью воды [47]. Проведённые ранее исследования показали, что наиболее благоприятной для произрастания считается морская вода с солёностью 25,5–34,0 ‰ и 17 ‰ для водорослей из морских и солоноватоводных популяций соответственно [10]. Произрастающие на литорали в районе Абрам-мыса водоросли *F. vesiculosus* постоянно подвергаются воздействию морских вод пониженной солёности. Вода с солёностью 15–20 ‰ не оказывает стрессового воздействия на метаболизм водорослей.

В мае и июне, когда были отмечены минимальные значения солёности воды, в талломах исследуемых водорослей зафиксирована наибольшая концентрация как отдельных САК, так и их суммы. Возможно, что аккумуляция САК в конце весны и начале лета связана с запасанием азота, необходимого для роста и размножения в летний период, когда концентрация данного биогенного элемента в среде снижается. Значительное распреснение морских вод (7,0–7,5 ‰), вероятно, может способствовать повышению концентрации САК в этот период, снижая интенсивность синтеза белка и, как следствие, влияя на интенсивность роста водоросли. Ранее проведённое исследование показало, что пониженная солёность морской воды замедляет скорости роста длины и массы таллома *F. vesiculosus* и приводит к увеличению количества отдельных общих аминокислот в составе водоросли [48, 177, 184].

Относительное содержание гидрофильных полярных аминокислот в течение года меняется аналогично сумме аминокислот, в пределах 55,7–88,6 % от суммы САК. При этом более высокое их относительное содержание приходится на более тёплый период года со значительным распреснением прибрежных вод (таблица 3.6, таблица А.1). Рассчитанные коэффициенты корреляции Спирмена показали, что концентрация данной группы аминокислот возрастает при повышении температуры воздуха и снижении солёности морской воды в течение года (таблица А.3). Возможно, что данная группа САК принимает участие в поддержании осмотического потенциала при снижении солёности воды и стабилизации белковых молекул в клетках водорослей при значительной потере воды талломами во время осушения в летний период.

Таким образом, данное исследование показало, что качественный состав САК *F. vesiculosus* в течение года стабилен, но изменяется количественно: в весенне-летний период концентрация САК высокая, тогда как в осенне-зимний – более низкая. В разные сезоны года происходит изменение соотношения пластического и энергетического обмена. В зимний период будет усиливаться роль энергетического обмена за счёт расщепления полисахаридов и вовлечения продуктов их распада в ЦТК, так как активность фотосинтетических процессов снижена (цикл Кальвина). Весной и летом будет усиливаться пластический обмен за счёт активации цикла Кальвина и ЦТК (за счёт синтеза предшественников ароматических аминокислот и семейств глутаминовой и аспарагиновой кислот соответственно).

Среди доминирующих САК можно выделить глутаминовую и аспарагиновую кислоты, аланин и пролин. Возможно, что у бурой водоросли *F. vesiculosus* данные аминокислоты выступают в качестве одной из резервных форм органического азота, а также в качестве его транспортных форм при распределении по таллому.

На основании комплексного анализа динамики концентрации САК и ряда физиологических показателей водорослей, например, скорости роста, МАК, интенсивности фотосинтеза/дыхания (литературные источники) были скорректированы фазы развития *F. vesiculosus* и выделены следующие: фаза

покоя, фаза активации роста, фаза роста и фаза накопления запасных веществ. Каждой из фаз развития присуща характерная динамика суммы САК.

Полученные данные о влиянии абиотических факторов (температура среды и солёность морской воды) на концентрацию САК являются еще одним подтверждением участия САК в формировании ответных реакций организма на изменение факторов внешней среды. При этом группа гидрофильных полярных аминокислот может принимать участие в поддержании осмотического потенциала при снижении солёности воды в периоды распреснения поверхностных прибрежных вод, а также способствовать стабилизации белковых молекул в клетках водорослей при повышении температуры или значительной потере воды талломами во время осушения в летний период.

3.5 Распределение САК по таллому *F. vesiculosus* в разные сезоны года

Исследование проводили на водорослях, собранных в разные сезоны года из одного места произрастания (район Абрам-мыса 68°58,5' N, 33°01,6' E). Сравнивали качественный состав и концентрацию САК в 4 участках таллома: апикальных частях, средней (основной) части, стволиках и рецептакулах.

В результате исследования было определено, что в разных участках таллома *F. vesiculosus* пул САК представлен 18 аминокислотами. Качественный состав аминокислот изменился только в стволике: в осенний период концентрация гистидина была в следовых количествах, а зимой отсутствовал цистин с цистеином. В остальных частях таллома состав САК не менялся (рисунок 3.8, таблица 3.7).

Все 18 идентифицированных САК относились к протеиногенным аминокислотам. Пик триптофана на электрофорограммах отсутствовал, как и пик гидроксипролина. Стандарты других непротеиногенных аминокислот (орнитина, таурина) на момент проведения исследования, к сожалению, отсутствовали. Наибольшая суммарная концентрация САК была определена в летний период в апикальных участках таллома и составила 18,794 мг·г⁻¹ сухой

массы, минимальная – зимой в стволиках, не превышала $0,197 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$ сухой массы. В рецептакулах концентрация САК повышалась по мере их развития и созревания гамет, достигая максимума летом ($9,575 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$ сухой массы).

Во все сезоны года в апикальных, средних участках таллома и рецептакулах доминирующими аминокислотами были глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота и аланин. Их суммарное относительное содержание составляло от 41,6 % до 92,6 % от суммы САК. В стволиках *F. vesiculosus* преобладание этих аминокислот в пуле САК было выявлено лишь весной и летом (63,3 % и 75,5 % от суммы САК соответственно). Доля фенилаланина в пуле САК во всех исследуемых участках таллома увеличивалась до 7,5–13,8 % весной и осенью, а относительное содержание цистина с цистеином возрастало до 5,9–22,9 % от суммы САК весной. Для средней части таллома и стволиков *F. vesiculosus* было характерно высокое относительное содержание пролина в разные сезоны года. В стволиках *F. vesiculosus* осенью и зимой относительное содержание пролина возрастало до 36,2 % и 58,1 % от суммы САК. Доля остальных аминокислот в пуле САК в основном была ниже 5 % во всех исследованных участках таллома в разные сезоны года (таблица А.4).

Рассматривая изменения общей концентрации САК в разные сезоны года отдельно, можно отметить, что зимой средняя часть таллома *F. vesiculosus* содержала большие концентрации САК (как отдельных аминокислот, так и их суммы), чем остальные участки. В апикальных участках таллома, стволике и рецептакулах в этот период года была выявлена минимальная концентрация отдельных САК и их суммы. Зимой различия между участками таллома оказались наиболее значительными.

Весной во всех участках таллома происходило увеличение концентрации САК по сравнению с зимними значениями. Значимого преобладания по концентрации САК в каком-то одном участке таллома не наблюдалось. Суммарная концентрация САК, а также концентрация глутаминовой кислоты, пролина и фенилаланина была выше весной в средней части таллома. При этом в апикальных участках оказалось больше аспарагиновой кислоты, аргинина,

валина, глицина, серина и цистина с цистеином. Также часть САК находилась в бóльшей концентрации в стволиках (гистидин, лизин, лейцин с изолейцином, метионин, треонин) и рецептакулах (тирозин). Весной различия в концентрации САК между участками таллома были наименьшими.

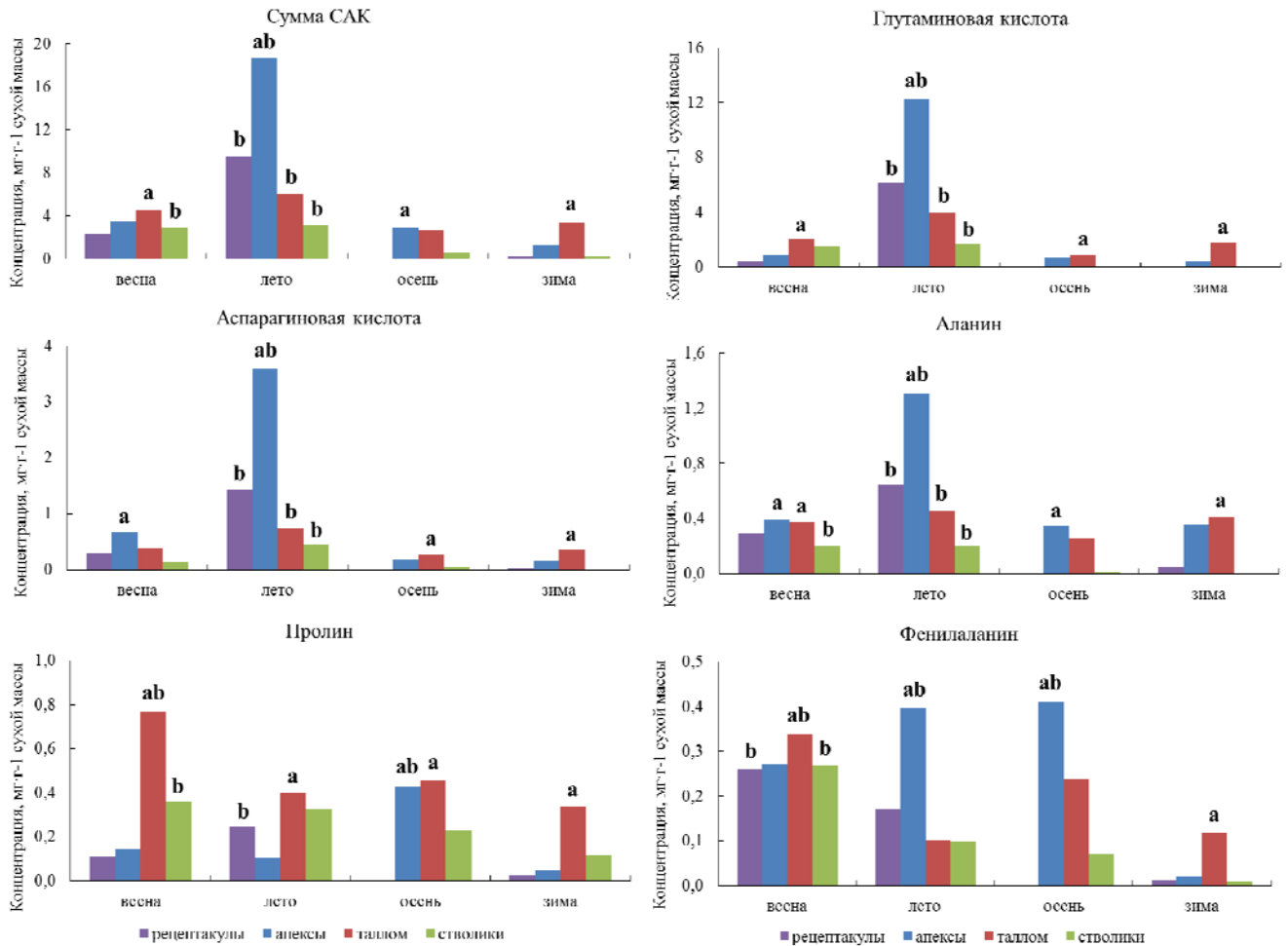


Рисунок 3.8 – Концентрация доминирующих САК и их суммы в различных участках таллома *F. vesiculosus* из района Абрам-мыса в разные сезоны 2016 года. Данные представлены в виде медианы. а – наибольшие значения концентрации САК между участками таллома в один сезон. б – наибольшие значения концентрации САК в одном и том же участке таллома между разными сезонами

Таблица 3.7 – Концентрация САК в различных частях таллома *F. vesiculosus* из района Абрам-мыса в разные сезоны 2016 года, мг·г⁻¹ сухой массы водорослей*

Аминокислота	Весна (апрель)				Лето (июль)				Осень (октябрь)			Зима (декабрь)			
	рецептакулы	апексы	таллом	стволики	рецептакулы	апексы	таллом	стволики	апексы	таллом	стволики	рецептакулы	апексы	таллом	стволики
Аргинин	0,042 ^b	0,054 ^a	0,013	0,029	0,035 ^b	0,080 ^a	0,027	0,016	0,115 ^{ab}	0,115 ^{ab}	0,035 ^b	0,016	0,027	0,034 ^a	0,014
Валин	0,039	0,049 ^a	0,034	0,021 ^b	0,090 ^{ab}	0,076 ^b	0,029	0,019 ^b	0,054 ^a	0,026	0,006	0,003	0,025 ^a	0,026 ^a	0,004
Гистидин	0,022	0,029 ^a	0,019	0,030 ^a	0,105 ^{ab}	0,081 ^b	0,040	0,041 ^b	0,003	0,005 ^a	следы	0,009	0,012	0,047 ^{ab}	0,002
Глицин	0,031	0,057 ^a	0,040 ^b	0,020	0,060 ^b	0,092 ^{ab}	0,033	0,027 ^b	0,090 ^{ab}	0,036	0,012	0,009	0,015	0,024 ^a	0,004
Изолейцин+ Лейцин	0,040 ^b	0,036	0,035	0,089 ^{ab}	0,047 ^b	0,063 ^a	0,025	0,018	0,138 ^{ab}	0,130 ^{ab}	0,014	0,005	0,016	0,024 ^a	0,003
Лизин	0,004	0,006	0,007	0,044 ^{ab}	0,030 ^b	0,042 ^{ab}	0,010	0,010	0,016 ^a	0,017 ^{ab}	0,004	0,002	0,006	0,011 ^a	0,002
Метионин	0,008	0,006	0,004 ^b	0,011 ^{ab}	0,008 ^a	0,006	0,003	0,003	0,008 ^a	0,001	0,004	0,010 ^b	0,015 ^{ab}	0,002	0,002
Серин	0,045	0,069 ^a	0,055	0,050 ^b	0,195 ^{ab}	0,152	0,058	0,049 ^b	0,210 ^{ab}	0,051	0,016	0,016	0,045	0,054 ^a	0,004
Треонин	0,052	0,059	0,049 ^b	0,071 ^{ab}	0,170 ^{ab}	0,146 ^b	0,043 ^b	0,032	0,077 ^a	0,051 ^b	0,020	0,014	0,030 ^a	0,026	0,011
Тирозин	0,081 ^{ab}	0,042	0,062	0,011	0,042 ^a	0,041 ^a	0,023	0,020	0,156 ^{ab}	0,092 ^b	0,028 ^b	0,007	0,021 ^a	0,017	0,005
Цистеин+ Цистин	0,534 ^b	0,659 ^{ab}	0,269 ^b	0,043	0,094	0,129 ^a	0,053	0,091 ^b	0,027 ^a	0,006	0,013	0,003	0,021	0,056 ^a	следы

Примечания

- 1) * – данные представлены в виде медианы;
- 2) ^a – наибольшие концентрации САК между участками таллома в один сезон;
- 3) ^b – наибольшие значения концентрации САК в одном и том же участке таллома по сравнению с остальными сезонами

Летом общая концентрация САК, а также концентрация глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты и аланина во всех участках таллома была наибольшей. Пролин снижался везде, кроме рецептакул, а фенилаланин – во всех участках, кроме апексов. Концентрация остальных САК в разных участках таллома изменялась по-разному: концентрация одних аминокислот повышалась, а других – снижалась. По концентрации большинства отдельных аминокислот и их суммы летом апикальные участки *F. vesiculosus* превосходили остальные части таллома. Для рецептакулов летом была характерна наибольшая концентрация практически всех САК за годовой период исследования.

Осенью пул САК, а также концентрация аланина, аспарагиновой и глутаминовой кислот снижалась во всех участках таллома. В то же время концентрация некоторых САК увеличивалась. Так во всех участках таллома наблюдалось более высокая концентрация аргинина и тирозина по сравнению с летними значениями. В октябре по концентрации большинства отдельных аминокислот и их суммы апикальные участки *F. vesiculosus* превосходили остальные части таллома. А стволики содержали наименьшие концентрации практически всех САК, по сравнению с апексами и средней частью таллома (рисунок 3.8, таблица 3.7).

Изменения концентрации САК в течение года в разных участках таллома были как значительными (например, для глутаминовой кислоты в стволиках разница между минимальной концентрацией зимой и максимальной концентрацией летом составила 212 раз), так и практически отсутствовали (концентрация серина в средней части таллома в течение года была практически одинаковой). Значительные изменения в концентрации как отдельных САК, так и их суммы были определены в апикальных участках, стволиках и рецептакулах *F. vesiculosus*. В этих частях таллома суммарная концентрация САК в зависимости от сезона года изменялась в 14,7–32,7 раза, а концентрации большинства отдельных аминокислот – в 5 и более раз. Наименьшие колебания в концентрации САК были определены для средней части таллома, в которой пул САК варьировал

в зависимости от сезона года в 2,3 раза, а концентрации 7 аминокислот от 5,0 раз до 44,2 раза, 10 аминокислот – от 1,3 раза до 4,6 раз (рисунок 3.8, таблица 3.7).

Полученные данные показывают, что в талломах бурой водоросли *F. vesiculosus* САК распределены неравномерно. Различия в концентрации САК между апикальными участками, средними частями таллома, стволиками и рецептакулами были выявлены во все сезоны года (рисунок 3.8, таблица 3.7). При этом для суммы САК различия между участками таллома были наиболее выражены в зимний период (разница между средней частью таллома и остальными участками составляла 2,7–16,9 раз), а наименее – весной (разница между средней частью таллома и остальными участками составляла 1,3–2,0 раз).

Вероятнее всего, это связано как с разной интенсивностью синтеза аминокислот в разных участках таллома, так и с перераспределением аминокислот между участками [33]. У бурых высокоорганизованных водорослей было обнаружено перераспределение продуктов фотосинтеза (маннита, САК) между участками таллома. Направление транспорта веществ зависит от расположения зоны роста, в которую, в основном, и направлен поток веществ из средней части таллома [85, 98, 204, 222]. Известно, что процесс роста влияет на скорость транспорта веществ внутри талломов водорослей. Чем рост интенсивнее, тем быстрее и больше фотоассимилятов доставляется в растущие участки [158]. Зимой, когда процессы роста и метаболизма у *F. vesiculosus* минимальны, транспорт фотоассимилятов, в том числе и САК, из средней части таллома также замедляется. Это приводит к значительным различиям в количестве САК между частями таллома. Весной, когда процесс роста водорослей ускоряется, скорость синтеза САК в клетках возрастает, транспорт веществ из средней части таллома тоже увеличивается, что приводит к повышению концентрации всех САК и более равномерному их распределению по таллому. У *Saccharina japonica* с дальневосточного побережья России, также как и у исследуемого *F. vesiculosus*, различия между участками таллома в концентрации САК были менее выражены в период спороношения (лето), зато при разрушении пластины осенью-зимой значительно увеличивались и составляли 8,3 раза [57]. В летние и осенние месяцы

у этого вида водоросли было выявлено чёткое распределение САК вдоль таллома: от наибольшего в базальном участке до наименьшего в дистальном [57]. Для *Macrocystis pyrifera*, *Ascoseira mirabilis* распределение аминокислот вдоль талломов изменялось в течение года [111, 222]. У *Laminaria hyperborea*, в отличие от остальных водорослей, пластина и стволик содержали одинаковые концентрации САК в летний период [87].

Для беломорского *Fucus vesiculosus* также было показано неравномерное распределение САК по таллому летом (август). Но в отличие от исследуемого баренцевоморского фукуса он содержал относительно высокие количества аминокислот не только в апексах, но и в стволике. При этом в средней части таллома беломорского фукуса летом концентрации всех САК были низкие [85]. Различия в распределении САК по таллому у фукусов из разных морей, скорее всего, связаны с внешними условиями произрастания и с различиями в сроках наступления разных фаз развития водорослей. Одним из важных внешних факторов, который мог повлиять на концентрацию САК в средней части таллома у беломорского фукуса, является концентрация неорганического азота в воде. Баренцевоморский фукус собирался в районе Абрам-мыса Кольского залива, где прибрежные воды испытывают сильную антропогенную нагрузку, в том числе обусловленную эвтрофикацией (подробное воздействие данного фактора обсуждалось в главе 3.2). Отсутствие азотного голодания в летний период у баренцевоморских фукусов, вероятно, и способствовало более высокой концентрации аминокислот в средней части таллома, в отличие от беломорского *F. vesiculosus*. Также на различия в концентрации САК в летний период могли повлиять различные сроки сбора и, соответственно, различия в фазе развития. Баренцевоморский фукус был собран в июле, когда водоросли только переходят в фазу накопления запасных соединений для подготовки к зимнему периоду. *F. vesiculosus* из Белого моря собирали в августе, когда водоросли уже могли накопить определённое количество запасных веществ (главным образом полисахаридов), что могло повлиять на снижение концентрации азотистых соединений в средней части таллома.

В зимний период практически все САК в наибольшей концентрации содержались в средней части таллома *F. vesiculosus*. Вероятно, до начала периода роста и оттока аминокислот в другие участки таллома именно здесь синтезируется и аккумулируется основная часть САК. Более высокая концентрация САК в средней части пластины по сравнению с основанием в зимний период была выявлена и для *Macrocystis pyrifera* [109]. Вероятно, подобное распределение САК между разными участками таллома является наиболее выгодным для *F. vesiculosus* в период отсутствия значительных потребностей у водорослей в аминокислотах для роста и синтеза белка.

Весной наблюдалось увеличение концентрации практически всех САК, а также их суммы во всех рассматриваемых участках таллома по сравнению с зимой. Это, скорее всего, вызвано интенсивно протекающим ростом таллома водорослей, а также с накоплением азотсодержащих соединений в этот период. Рост таллома, формирование и созревание гамет в рецептакулах стимулируют отток аминокислот из участков, где они в большем количестве синтезируются, в другие части таллома. Скорее всего, это способствует более равномерному распределению САК между разными частями таллома весной. В апреле невозможно было выделить часть таллома, в которой большинство САК находились в наибольшем количестве. При этом суммарная их концентрация, а также концентрация глутаминовой кислоты, пролина и фенилаланина была выше в средней части таллома, но остальные аминокислоты в наибольшей концентрации присутствовали в апексах, стволиках и рецептакулах. Скорее всего, подобное распределение определяется как колебаниями внешних факторов, влияющих на скорость синтеза САК, так и различиями в интенсивности их использования в разных участках таллома, связанных с выполняемыми функциями.

Сравнивая данные по концентрации и перераспределению САК между участками таллома *F. vesiculosus* из района Абрам-мыс в 2014 и 2016 году, видно, что в апреле 2014 года при более высоких температурах внешней среды, САК в основном аккумулируются в апикальных участках таллома и рецептакулах. Тогда

как пониженная температура в апреле 2016 года приводила к более низкому содержанию САК во всех участках таллома (апикальных, средних частях таллома, рецептакулах) (рисунки 3.8, 3.10, таблицы 3.7, 3.8). Как показало проведённое в апреле 2014 года исследование, в весенний период концентрация САК в разных участках таллома зависит от внешних факторов, наиболее значимыми из которых являются температура и солёность. Температура влияет на начало периода роста и тем самым на перераспределение САК между участками таллома. А понижение солёности способствует накоплению САК, вероятно за счёт замедления синтеза белка, и, как следствие, снижения скорости роста (см. глава 3.6.2). В исследованиях, проведённых Nygård и Dring [184], было показано, что пониженная солёность негативно влияет на рост *F. vesiculosus*.

Летом апикальные участки таллома и рецептакулы содержали большинство САК в наибольшем количестве. В средней части таллома и стволиках у *F. vesiculosus* в этот период года увеличивалась концентрация доминирующих и ещё 3–5 САК, но концентрация остальных аминокислот снижалась по сравнению с весной. В период интенсивного роста и высокой конкуренции за биогенные элементы накопление САК в водорослях может свидетельствовать о достаточно высоком содержании азота в среде. Водорослям хватает данного биогенного элемента не только на рост и созревание гамет, но и на накопление азота в виде САК для последующего использования. Способность макрофитов накапливать азот в виде преимущественно доминирующих САК была показана у *Ulva pertusa*, *Ulva ohnoi*, *Ulva fenestrata* и *Gracilaria pacifica* [77, 181, 187]. Аккумуляция большого количества САК в апикальных участках таллома летом скорее всего являлась результатом протекающих ростовых процессов и синтезом белков в молодых клетках, что стимулировало отток САК из средних участков таллома в его верхнюю часть. Рецептакулы *F. vesiculosus* также аккумулировали САК, вероятно, в качестве необходимых для развития и созревания гамет веществ. Увеличение концентрации САК в средней части таллома и стволиках в июле (как и в апреле) скорее всего связано с накоплением данных соединений в качестве запасных источников азота. Поскольку стволики обладают небольшой площадью

фотосинтетической поверхности, то, вероятно, значительное повышение САК в данных участках таллома в весенне-летний период (в 15–16 раз для суммы САК по сравнению с осенне-зимним периодом) происходило не за счёт синтеза САК собственными клетками меристодермы, а путём их транспорта из средней части таллома. К подобному же выводу о возможном транспорте фотоассимилятов из среднего участка таллома в стволик пришли исследователи при изучении распределения различных низкомолекулярных веществ в разных участках таллома беломорского *F. vesiculosus* [85].

Осенью во всех участках таллома *F. vesiculosus* было выявлено снижение концентрации большей части САК и их суммы по сравнению с летними показателями. Причиной этому, вероятно, является отсутствие необходимости в их синтезе и накоплении. Процессы роста в этот период года значительно снижаются по сравнению с летом. Закладка и рост рецептакул протекают очень медленно [41]. Происходит накопление запасных соединений и подготовка к зиме. В клетках происходит снижение метаболической активности [197]. Осенью основная часть САК также содержалась в большем количестве в верхушках талломов, но это, скорее всего, являлось результатом замедления роста и медленным расходом накопленных ранее аминокислот. На фоне снижения концентрации большинства САК, необходимо отметить значительное повышение относительного содержания свободного пролина в стволиках *F. vesiculosus* в осенне-зимний период: его относительное содержание составляет от 36 % до 58 % от суммы САК (таблица А.4). Возможно, что в стволиках в холодное время года пролин выполняет роль криопротектора, защищая клетки этого участка таллома от образования кристаллов льда и возможного нарушения целостности, что может привести к разрушению клеток стволика, снижению механической прочности, отрыву от субстрата и, как следствие, гибели водоросли. Проведённые ранее работы на водорослях показали, что свободный пролин может выполнять роль криопротектора и повышать их устойчивость к низким температурам [118, 126]. Возможно, что в стволиках *F. vesiculosus* для криопротекторной защиты клеток не требуется больших концентраций свободного пролина. Поскольку его

концентрация в осенне-зимний период ниже, чем весной или летом (рисунок 3.8). Для подтверждения криопротекторной роли свободного пролина в клетках стволика необходимо проведение экспериментальных исследований. В остальных участках таллома столь значительного преобладания в составе пула САК свободного пролина в осенне-зимний период выявлено не было.

Распределение САК внутри таллома *F. vesiculosus* в разные сезоны года можно представить в виде схемы (рисунок 3.9).

Наибольшая концентрация САК у *F. vesiculosus* приходилась на весенне-летний период. В это время года у бурых водорослей Баренцева моря происходит интенсивный рост таллома и размножение [41] и водорослям необходимо синтезировать больше аминокислот. Этому способствуют более высокие температуры окружающей среды, повышенная интенсивность солнечной радиации и продолжительность освещения. Осенью и зимой концентрация большинства САК снижается во всех участках таллома. В осенне-зимний период внешние условия для синтеза САК ухудшаются (происходит снижение температуры, фотосинтетически активной радиации, продолжительности освещения), а метаболизм водорослей направлен на сохранение и поддержание жизнедеятельности в тяжёлый по внешним условиям период года. Поэтому синтетические процессы в талломах направлены в основном не на синтез органических азотсодержащих соединений, а на синтез запасных и защитных веществ (например, полисахаридов). Подобные изменения САК в различных участках таллома в разные сезоны года были выявлены у антарктической *Ascoseira mirabilis*: во время активного роста также наблюдалось повышение концентрации САК во всех участках таллома и их снижение при замедлении роста [111].

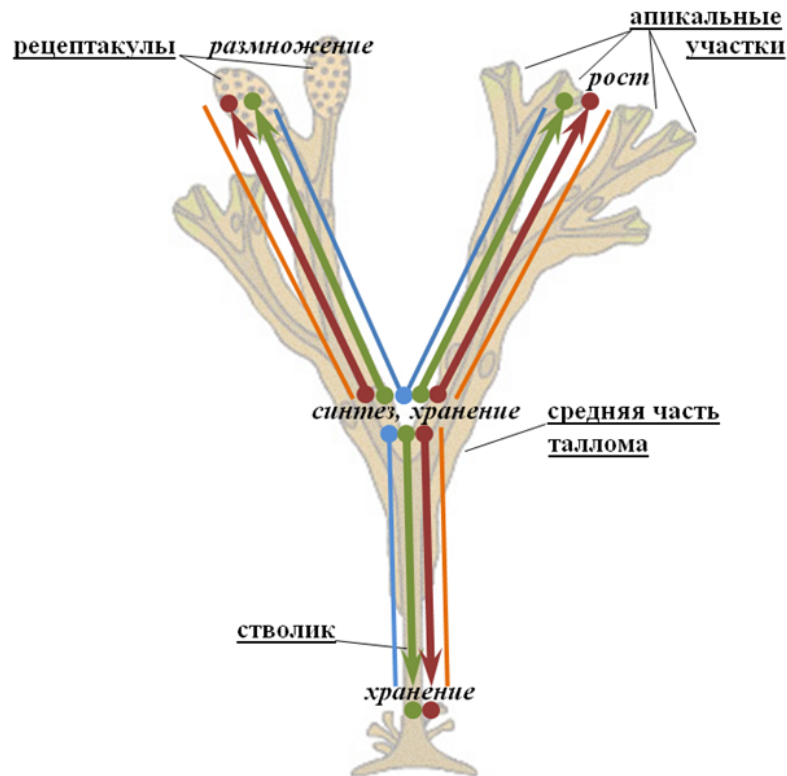


Рисунок 3.9 – Схема транспорта САК по таллому *F. vesiculosus* в разные сезоны года. Стрелками указаны направления транспорта аминокислот. Прямые линии без стрелок обозначают отсутствие транспорта САК. Круги обозначают накопление САК в участках таллома. Цвет линий, стрелок и кругов: синие – зима, зелёные – весна, красные – лето, оранжевые – осень

Таким образом, проведённое исследование показало, что по качественному составу САК разные участки таллома *F. vesiculosus*, кроме стволика, не отличаются между собой. Для стволиков было показано изменение в составе САК в зависимости от сезона года. Преобладающими в составе пула САК в разных участках таллома являлись глутаминовая и аспарагиновая кислоты, аланин, пролин и фенилаланин. Максимальная концентрация, как большинства аминокислот, так и их суммы во всех участка таллома была характерна для весеннего и летнего периодов года. В процессе формирования, роста и созревания рецептакул и гамет концентрация САК в них повышается. Наименьшие колебания концентрации отдельных САК и их суммы были определены для средней части таллома. Концентрация и перераспределение САК между участками таллома *F. vesiculosus* зависели от внешних условий среды, а также от фазы развития водоросли (направленности метаболических процессов). Вероятно, средняя часть таллома и стволик у *F. vesiculosus* выступают в роли хранилищ запасного азота,

накапливаемого водорослями в виде САК. Концентрация и перераспределение САК в талломах *F. vesiculosus* отрегулировано таким образом, чтобы более эффективно использовать доступные и необходимые для успешного роста и размножения ресурсы и энергию в суровых условиях Арктики.

3.6 Влияние температуры и солёности на качественный состав и концентрацию САК у *F. vesiculosus* в естественных условиях

Исследование проводили на водорослях собранных в апреле 2014 и 2016 гг. в разных губах и бухтах Мурманского берега Баренцева моря (рисунки 2.1, 2.5). Анализировали качественный состав и концентрацию САК в разных участках таллома: влияние температуры на концентрацию и перераспределения САК у водорослей из разных губ и бухт проводили на апикальных и средних частях таллома, а влияние температуры на концентрацию САК у водорослей из одного места (район Абрам-мыса, Кольский залив) весной в разные года проводили на апикальной, средней части и рецептакулах (рисунок 2.10).

Географически, бухта Девкина Заводь и губа Ура располагаются на западе Мурманского берега, район Абрам-мыса и губа Белокаменная – в центральной его части, а губы Корабельная, Лодейная и Оскара – на востоке. Подробное описание мест представлено в главе 2.1. Данные районы на момент отбора проб различались по температурному и солёностному режимам.

Качественный состав и концентрация САК у бурых водорослей *F. vesiculosus*, собранных в апреле 2014 г в разных губах и бухтах Мурманского берега, представлены на рисунке 3.10 и в таблице 3.8.

Всего в составе пула САК было определено 20 аминокислот вне зависимости от места сбора и участка таллома. Из непротеиногенных аминокислот в водорослях присутствовал гидроксипролин.

В наибольшей концентрации были обнаружены аланин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты. Суммарное относительное содержание этих трёх аминокислот составляло от 56,4 % до 84,8 % от суммы САК в водорослях. Такие аминокислоты, как пролин, серин, фенилаланин и цистин с цистеином в сумме составляли от 8,3 % до 29,3 % от общего количества САК. Доля остальных аминокислот в пуле была менее 5 % от суммы САК в различных частях таллома

водорослей. В наименьшей концентрации в пробах содержались изолейцин, лизин и гидроксипролин (рисунок 3.10, таблица 3.8).

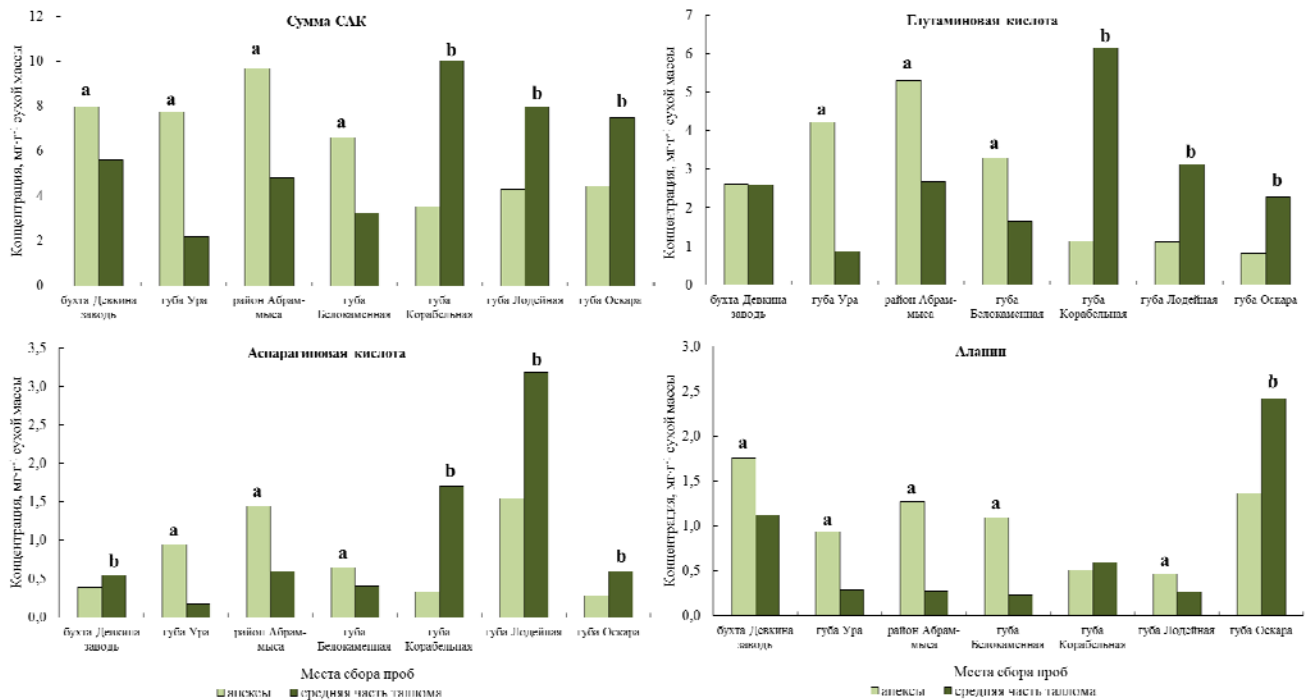


Рисунок 3.10 – Концентрация доминирующих САК и их суммы в апексах и средней части таллома *F. vesiculosus* из разных губ и бухт Мурманского берега в апреле 2014 года. Данные представлены в виде медианы. а – значимо более высокая концентрация аминокислоты в апикальных участках таллома. б – значимо более высокая концентрация аминокислоты в средней части таллома

Водоросли, собранные в разных районах Мурманского побережья, отличались по общей концентрации САК и распределению САК по разным участкам таллома.

У водорослей с западной части Мурманского берега (бухта Девкина Заводь, губа Ура) суммарная концентрация САК оказалась выше в апикальных участках таллома. Что касается отдельных составляющих пул аминокислот, то практически у всех концентрация оказалась в бóльшем количестве в апексах, по сравнению со средней частью таллома. Разница составляла от 1,4 раза (для гистидина между апексами и средней частью таллома у фукусов из бухты Девкина Заводь) до 12,3 раза (для лизина между апексами и средней частью таллома у фукусов из губы Ура). При этом концентрация пролина, а для водорослей из бухты Девкина Заводь ещё и концентрация аспарагиновой кислоты, оказалась выше в средней части таллома, в 1,4–2,4 раза по сравнению с апикальными участками (рисунок 3.10, таблица 3.8).

Таблица 3.8 – Концентрация САК в различных частях таллома *F. vesiculosus*, произрастающего в разных акваториях Мурманского берега в апреле 2014 года, мг·г⁻¹ сухой массы водорослей*

Аминокислота	бухта Девкина Заводь		губа Ура		район Абрам-мыса		
	апексы	средняя часть таллома	апексы	средняя часть таллома	рецептакулы	апексы	средняя часть таллома
Аргинин	0,161 ^a	0,016	0,096 ^a	0,028	0,127 ^c	0,094	0,019
Валин	0,127 ^a	0,050	0,061 ^a	0,031	0,077 ^c	0,077 ^a	0,040
Гистидин	0,134 ^a	0,089	0,083 ^a	0,050	0,117 ^c	0,094 ^a	0,074
Глицин	0,202 ^a	0,091	0,164 ^a	0,075	0,240 ^c	0,183	0,096
Изолейцин	0,076 ^a	0,017	0,017 ^a	0,008	0,020 ^c	0,019 ^a	0,013
Лейцин	0,182 ^a	0,025	0,034 ^a	0,014	0,052 ^c	0,039	0,018
Лизин	0,057 ^a	0,011	0,040 ^a	0,003	0,061 ^c	0,040	0,007
Метионин	0,059 ^a	0,038	0,043 ^a	0,009	0,080 ^c	0,055	0,025
Пролин	0,113	0,278 ^b	0,107	0,158 ^b	0,021	0,087	0,448 ^b
Серин	0,444 ^a	0,193	0,374 ^a	0,137	0,404 ^c	0,398 ^a	0,199
Треонин	0,191 ^a	0,176	0,126 ^a	0,066	0,249 ^c	0,146	0,121
Тирозин	0,256 ^a	0,056	0,046 ^a	0,018	0,063 ^c	0,075 ^a	0,028
Триптофан	0,063 ^a	0,032	0,039 ^a	0,007	0,050	0,042	0,041
Фенилаланин	0,482 ^a	0,141	0,116 ^a	0,079	0,105 ^c	0,109 ^a	0,068
Цистин+цистеин	0,687 ^a	0,136	0,250	0,216	0,064	0,234 ^a	0,057
Гидроксипролин	0,032 ^a	0,007	0,023 ^a	0,012	0,022 ^c	0,022 ^a	0,005

Продолжение таблицы 3.8

Аминокислота	губа Белокаменная		губа Корабельная		губа Лодейная		губа Оскара	
	апексы	средняя часть таллома	апексы	средняя часть таллома	апексы	средняя часть таллома	апексы	средняя часть таллома
Аргинин	0,085 ^a	0,026	0,013	0,015	0,016	0,017	0,064	0,056
Валин	0,064 ^a	0,028	0,040	0,045	0,030	0,030	0,077	0,098 ^b
Гистидин	0,087 ^a	0,063	0,052	0,079 ^b	0,026	0,044 ^b	0,069	0,074
Глицин	0,169 ^a	0,070	0,120	0,127	0,084	0,078	0,179	0,137
Изолейцин	0,015 ^a	0,009	0,010	0,020 ^b	0,027	0,031	0,031	0,035
Лейцин	0,031 ^a	0,012	0,017	0,030 ^b	0,057 ^a	0,025	0,046	0,048
Лизин	0,035 ^a	0,005	0,013	0,021 ^b	0,024	0,025	0,018	0,020
Метионин	0,049 ^a	0,015	0,024	0,038 ^b	0,007	0,006	0,035	0,050
Пролин	0,112	0,352 ^b	0,066	0,357 ^b	0,286	0,274	0,151	0,209 ^b
Серин	0,374 ^a	0,145	0,294	0,265	0,111	0,123	0,462	0,398
Треонин	0,139 ^a	0,083	0,105	0,177 ^b	0,106	0,109	0,198	0,263 ^b
Тирозин	0,046 ^a	0,017	0,041	0,043	0,032	0,026	0,058	0,048
Триптофан	0,033 ^a	0,018	0,022	0,040 ^b	0,053	0,054	0,067 ^a	0,042
Фенилаланин	0,092 ^a	0,037	0,075	0,093 ^b	0,054	0,472 ^b	0,101	0,217 ^b
Цистин+цистеин	0,280 ^a	0,080	0,562 ^a	0,123	0,205 ^a	0,074	0,455	0,461
Гидроксипролин	0,021 ^a	0,005	0,023	0,019	0,009	0,015 ^b	0,014	0,020 ^b

Примечания

- 1) * – данные представлены в виде медианы;
- 2) ^a – значимо более высокая концентрация аминокислот в апикальных участках;
- 3) ^b – значимо более высокая концентрация аминокислот в средней части таллома;
- 4) ^c – значимо более высокая концентрация аминокислот в рецептакулах

Для *F. vesiculosus*, собранных из акваторий центральной части Мурманского побережья (район Абрам-мыса, губа Белокаменная), также была характерна более высокая суммарная концентрация САК и концентрация отдельных аминокислот в апикальных участках талломов. Различия в концентрациях пула САК составляли 2,1 раза, а в концентрациях отдельных аминокислот – от 1,4 раза для гистидина между апексами и средней частью таллома до 6,0 раз для лизина. Так же, как и для водорослей из губ и бухт западной части Мурманского берега, концентрация свободного пролина у фукусов из центральной части побережья выше в средней части таллома (в 3,3–5,0 раз), чем в апикальных участках водорослей (рисунок 3.10, таблица 3.8).

В восточном районе Мурманского берега (губы Корабельная, Лодейная и Оскара) у фукусов была выявлена иная картина распределения аминокислот между участками таллома. У фукусов из этих губ пул САК оказался выше в 1,6–2,9 раз в средней части таллома по сравнению с апексами. По отдельным аминокислотам могли наблюдаться более значимые различия, например, у водорослей из губы Лодейная концентрация фенилаланина оказалось в 8,7 раза выше в средней части таллома, чем в апикальных участках. Лишь 2–4 аминокислоты содержались в большем количестве в апексах у водорослей из губ Восточного Мурман. У водорослей из губы Корабельная это были цистин с цистеином, из губы Лодейная – аланин, лейцин и цистин с цистеином, а из губы Оскара – глицин и триптофан. При этом для водорослей из губ Корабельная и Оскара так же, как и для фукусов с западного и центрального районов, была характерна более высокая концентрация свободного пролина в средней части таллома, по сравнению с апексами (рисунок 3.10, таблица 3.8).

Поскольку водоросли собирались в весенний период, то на них оказывали воздействие температура и сезонное изменение солёности.

3.6.1 Температура

Температура морской воды и воздуха при сборе водорослей была более высокой в бухте Девкина Заводь и губе Ура. Минимальные значения температуры как воды, так и воздуха были зафиксированы в губе Корабельная и губе Лодейная (рисунок 2.1, таблица 3.9). Значения температур на исследуемых станциях отличались друг от друга на 1–5 °C.

Согласно результатам критерия Краскела-Уоллиса температура воздуха оказывала влияние на концентрацию САК в разных участках таллома *F. vesiculosus* в апреле. Рассчитанные коэффициенты ранговой корреляции Спирмена показали наличие зависимости между концентрацией свободных аминокислот в различных участках таллома *F. vesiculosus* и температурой воздуха. Для большинства САК в апикальных участках таллома было определено присутствие положительной зависимости от температуры воздуха. Концентрация САК в апикальных участках таллома увеличивалась при повышении температуры в апреле. Концентрация 12 из 20 идентифицированных аминокислот, а также их суммы в апикальных участках таллома находилась в заметной и высокой корреляционной зависимости от температуры воздуха. В средней же части таллома лишь концентрации 6 САК находились в заметной и высокой отрицательной корреляционной зависимости от температуры воздуха. Суммарная концентрация САК в средней части таллома *F. vesiculosus* также снижалась при повышении температуры воздуха в апреле (таблица А.5).

Таблица 3.9 – Температура морской воды и воздуха на момент сбора водорослей в апреле 2014 года, °С

Параметр	Место сбора водорослей						
	бухта Девкина Заводь	губа Ура	район Абрам- мыса	губа Белокаменная	губа Корабельная	губа Лодейная	губа Оскара
Температура морской воды	5,9	6,5	3,5	3,8	2,3	2,2	2,2
Температура воздуха	6,0	7,5	6,1	4,3	2,3	2,1	2,0

Концентрации САК в разных участках таллома *F. vesiculosus* с литорали в районе Абрам-мыса, собранные в апреле 2014 и 2016 года, значительно различаются согласно критерию Манна-Уитни (данные за 2016 подробно проанализированы в главе 3.5). Для водорослей, собранных в апреле 2014 года, была характерна более высокая концентрация как суммы, так и большей части отдельных САК в апикальных, средних участках таллома и рецептакулах (рисунок 3.11, таблицы 3.7, 3.8). По концентрациям валина и лизина в средней части таллома водоросли из сборов разных годов были схожи. Фукусы сбора 2016 года во всех участках таллома содержали более высокие концентрации пролина, фенилаланина и цистина с цистеином. Также в средней части таллома у *F. vesiculosus* от апреля

2016 года были определены более высокие концентрации аланина, а концентрации лейцина с изолейцином и тирозина оказались выше как в средней части таллома, так и в рецептакулах (рисунок 3.11, таблицы 3.7, 3.8). Наиболее выраженные различия в концентрации как суммы САК, так и отдельных аминокислот были выявлены для апикальных участков и рецептакул: разница составляла от 1,6 раза до 15 раз.

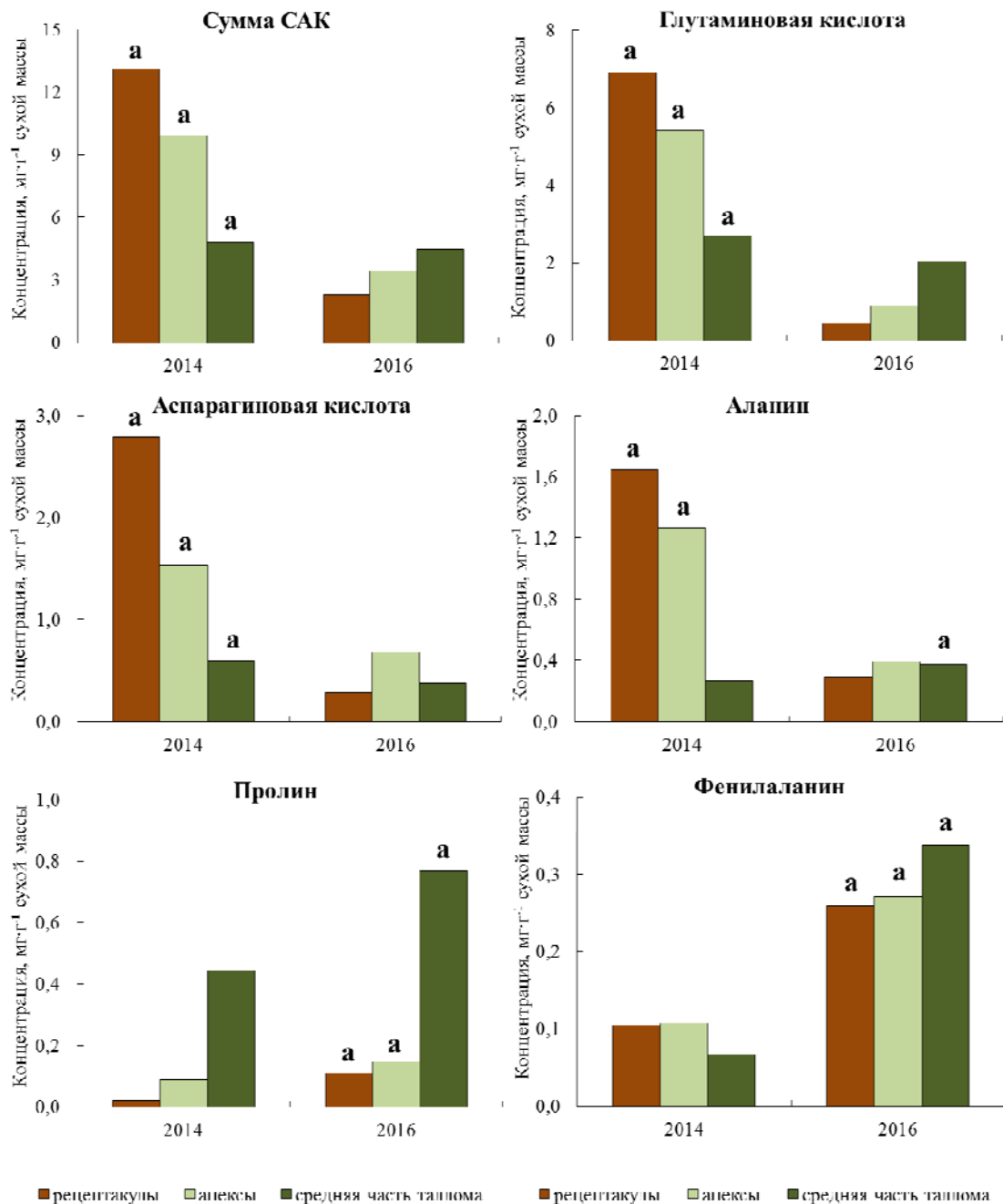


Рисунок 3.11 – Концентрация доминирующих САК и их суммы в разных участках таллома *F. vesiculosus*, собранных на литорали в районе Абрам-мыса в апреле 2014 и 2016 гг. Данные представлены в виде медианы. а – значимо более высокие концентрации аминокислот по сравнению с другим годом сбора

Более высокие значения по концентрации САК в апикальных участках по сравнению со средней частью таллома были характерны для фукусов, собранных в западной части Мурманского берега и Кольском заливе. Тогда как у водорослей, произрастающих в восточной части Мурманского берега, выявлено обратное распределение: в средней части таллома концентрация САК выше, чем в апексах. Эти данные свидетельствуют о более интенсивном процессе перераспределения САК внутри таллома у водорослей, собранных в этот период в западной части Мурманского берега и Кольском заливе, по сравнению с водорослями восточной части Мурманского берега.

Температура морской воды в юго-западной части Баренцева моря выше, чем в юго-восточной вследствие затока теплой ветви Нордкапского течения [3]. Согласно полученным данным, в акваториях Западного Мурмана температура морской воды была выше на 1,2–4,3 °С и температура воздуха выше на 2,0–5,5 °С по сравнению с Восточным Мурманом (таблица 3.9) [30].

Вероятно, это оказывает воздействие на процессы роста и развития, которые у водорослей с Восточного Мурмана смещены на более поздний период по сравнению макрофитами с Западного и Центрального Мурмана. Известно, что более позднее начало интенсивной вегетации и, как следствие, смещение сроков выхода репродуктивных клеток у фукоидов связано с низкой температурой воды [41]. В свою очередь, интенсивность ростовых процессов влияет на распределение свободных аминокислот между синтезирующими (средняя часть таллома) и растущими (апексы, рецептакулы) частями таллома [158]. И чем интенсивнее протекают ростовые процессы, тем быстрее происходит отток фотоассимилятов из основной (средней) части таллома в участки с повышенным их расходом. Это способствует неравномерному количественному содержанию САК в разных участках таллома у водорослей.

Весной температура окружающей среды является основным лимитирующим фактором, ограничивающим скорость метаболических процессов и интенсивность роста водорослей на южном побережье Баренцева моря. Повышение температуры воды и воздуха должно положительно влиять на синтез

и накопление органических веществ у водорослей, поскольку низкие температуры ограничивают транспорт электронов и фиксацию углерода, снижая возможность использовать свет на синтез веществ [94]. Но это наблюдалось по отношению к концентрации САК в апикальных участках таллома *F. vesiculosus*. А для средней части таллома была характерна обратная тенденция (таблица А.5). Это связано с влиянием температуры не только как ускорителя метаболических процессов в водорослях, но и как фактора, влияющего на интенсивность роста и перераспределение фотоассимилятов в водорослях. Аккумуляция САК в апексах указывает на интенсивный синтез и отток аминокислот из средней части таллома и более низкие по скорости процессы их использования. А снижение количества САК в средней части таллома свидетельствует о преобладающем оттоке САК в растущие участки таллома и более медленном их синтезе. Вероятно, синтез САК происходит интенсивнее при повышении температуры весной, но отток аминокислот из средней части таллома оказывается быстрее, чем процесс накопления.

Различия в концентрациях САК в разных участках таллома у водорослей, собранных в 2014 и 2016 годах, связаны с внешними абиотическими факторами. В апреле 2014 года температура среды и солёность морской воды в районе сбора была выше, чем в 2016 году (таблица 3.10). Согласно данным с сайта www.rp5.ru апрель 2014 года был более тёплым, как по среднемесячной, так и по минимальным и максимальным температурам воздуха, по сравнению с апрелем 2016 года (таблица 3.11). Известно, что для фукусовых водорослей характерна более высокая концентрация общего азота и аминокислот при произрастании в условиях пониженной солёности [175–177]. Но в апрельских сборах 2016 года, когда солёность была 17 ‰, концентрация практически всех САК в апексах и рецептакулах, а также части аминокислот в среднем участке таллома, оказалась наоборот ниже. Скорее всего, значительное влияние на концентрацию САК весной оказывала именно температура, а не солёность. Ранее проведённые исследования показали, что понижение, как и повышение температуры относительно оптимальной для роста вызывает снижение скорости фотосинтеза у

F. vesiculosus [184]. Но на аккумуляцию аминокислот в растении положительно будет влиять не только сниженные скорости ростовых процессов, но и благоприятные температуры для синтеза аминокислот [120]. Ведь если температура окружающей среды будет значительно ниже оптимальной для роста, то это может вызвать ограничение в транспорте электронов и фиксации углерода, значительно снижая синтез веществ [94]. Для большинства водорослей, произрастающих в Баренцевом море, оптимальной для роста является температура 10–15 °С [10]. Низкие температуры воды и воздуха в апреле замедляли интенсивность синтеза, перераспределения и накопления САК в разных участках таллома. Особенно сильно это проявлялось в апексах и рецептакулах, где концентрация не только суммы аминокислот, но и отдельных САК оказалось выше в 1,7–15,5 раза при более высоких температурах воды и воздуха в апреле 2014 года. А концентрации пролина, фенилаланина и цистина с цистеином наоборот, оказалось выше при более низких температурах окружающей среды (в 1,7–7,4 раза).

Таблица 3.10 – Факторы среды на момент сбора проб водорослей в 2014 и 2016 гг. в районе Абрам-мыса (Кольский залив)

Дата	Фактор среды		
	солёность, ‰	температура воды, °С	температура воздуха, °С
14 апреля 2014	26	3,5	6,1
15 апреля 2016	17	1,3	- 1,6

Таблица 3.11 – Температура воздуха в апреле 2014 и 2016 годов, °С (данные с сайта www.rp5.ru)

Год	Средняя за месяц	Максимальная за месяц	Минимальная за месяц
2014	3,3	5,3	1,8
2016	- 0,6	2,7	- 4,8

Пролин считают одним из основных соединений, снижающих негативное воздействие внешних факторов среды и способствующих выживанию растений [39, 210, 216]. Данная аминокислота повышается у многих видов растений в ответ на стресс, вызванный изменением солёности, засухой, холодом, дефицитом

биогенов, воздействием тяжёлых металлов или патогенных инфекций, повышением кислотности [39, 210, 216]. У красной водоросли *Mastocarpus stellatus* и зелёной водоросли *Prasiola crispa* определено повышение концентрации свободного пролина от самого тёплого до самого холодного периода года [118, 126]. Особенно резко повышение пролина происходило в месяцы, когда средняя дневная минимальная температура опускалась ниже точки замерзания тканей водоросли [126]. Возможно, пролин, а также фенилаланин и цистин с цистеином, у *F. vesiculosus* весной выполняют функцию не только структурных и запасных соединений, но в значительной степени принимают участие в процессах поддержания гомеостаза при низкой температуре окружающей среды в присутствии света.

Таким образом показано, что повышение температуры среды весной приводит к увеличению концентрации большей части САК в апикальных участках, средней части таллома и рецептакулах *F. vesiculosus*. При этом низкие температуры весной способствовали увеличению концентрации пролина, фенилаланина и цистина с цистеином во всех рассмотренных участках таллома. Водоросли *F. vesiculosus*, обитающие на литорали южного побережья Баренцева моря, переходят в фазу роста не одновременно. Наступление фазы роста у водорослей весной зависит от значений действующих температур и продолжительности их воздействия за предшествующий период (количество тёплых дней). Низкие температуры среды сдвигают начало фазы роста у водорослей на более поздний срок и тем самым замедляют отток аминокислот в апикальные участки таллома *F. vesiculosus* весной, способствуя временной их аккумуляции в средней части таллома. Изменение соотношения концентраций САК в разных участках таллома *F. vesiculosus* и их преобладание в апикальных частях свидетельствует о наступлении фазы роста.

3.6.2 Солёность

Влияние солёности было проанализировано на водорослях собранных в апреле 2014 г в разных губах и бухтах Мурманского берега Баренцева моря (рисунок 2.1).

Анализировали качественный состав и концентрацию САК в двух участках таллома: апикальных участках и средней части таллома (рисунок 2.10).

При сборе водорослей было определено, что солёность морской воды в зависимости от места отбора проб значительно различалась (таблица 3.12).

Качественный состав и концентрация САК в разных частях таллома бурой водоросли *F. vesiculosus*, собранной в апреле 2014 г в разных губах и бухтах Мурманского берега, представлены на рисунке 3.10 и в таблице 3.8. Всего в составе пула САК было определено 20 аминокислот вне зависимости от места сбора. В наибольшей концентрации были обнаружены аланин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты.

Таблица 3.12 – Солёность морской воды в местах сбора проб в апреле 2014 г, ‰

Параметр	Место сбора водорослей						
	бухта Девкина Заводь	губа Ура	район Абрам- мыса	губа Белокаменная	губа Корабельная	губа Лодейная	губа Оскара
Солёность морской воды	25,0	32,5	26,0	28,5	15,0	10,0	34,0

Концентрация САК у водорослей, собранных в разных губах и бухтах Мурманского берега, зависела как от места сбора, так и участка таллома. У водорослей, произрастающих в губах и бухтах на западе Мурманского берега и Кольском заливе, более высокая концентрация как суммы САК, так и большинства отдельных аминокислот, отмечалась в апикальных участках таллома. Тогда как у водорослей из акваторий Восточного Мурмана по сравнению с другими проанализированными местами отбора проб, бóльшие концентрации аминокислот отмечались в средней части таллома [30].

Было выявлено, что на перераспределение САК между апексами и средней частью таллома оказывает влияние температура среды обитания (см. глава 3.6.1). Начало фазы роста у водорослей, произрастающих в акваториях с более высокой температурой среды в весенний период, наступает раньше по времени, чем у водорослей из мест с низкой температурой. Сравнивать по влиянию солёности водоросли из всех собранных мест будет некорректно, поскольку фукусы,

произрастающие на западе Мурманского берега и Кольском заливе, уже вступили в фазу роста, тогда как фукусы из акваторий на востоке Мурманского берега ещё находятся в фазе активации роста. Поэтому сравнение по влиянию солёности на концентрацию САК проводили в двух группах отдельно: у водорослей в фазе роста (собранных в бухте Девкина Заводь, губе Ура, районе Абрам-мыса и губе Белокаменная) и у водорослей в фазе активации роста (собранных в губе Лодейная, губе Корабельная и губе Оскара).

Анализ полученных результатов с применением критерия Краскела-Уоллиса показал, что солёность морской воды оказывала влияние на концентрацию практически всех идентифицированных САК и их суммы в разных участках таллома *F. vesiculosus* в апреле. Рассчитанные коэффициенты ранговой корреляции Спирмена показали наличие зависимости между концентрацией САК в апикальных и средних участках таллома *F. vesiculosus* и солёностью воды (таблица А.6). Характер влияния солёности на особенности накопления большей части САК зависит от направленности метаболизма (от фазы развития).

Для апикальной и средней частей таллома отмечено, что пониженная солёность в фазу роста вызывает увеличение концентрации аминокислот, а в фазу активации роста, наоборот, снижает.

Исключение составили 2 аминокислоты, у которых вне зависимости от фазы развития водорослей наблюдалась одинаковая направленность в изменении концентрации. Так аргинин значительно накапливался в фукусах из мест с морской солёностью, а аспарагиновая кислота – в водорослях из распресняемых бухт и губ.

В Баренцевом море *F. vesiculosus* произрастает в верхнем и среднем горизонтах литорали, для которых характерны значительные колебания солёности. Они могут быть кратковременными и длительными. Кратковременные изменения солёности воды обусловлены наличием приливно-отливного цикла и длятся 3–6 часов. Длительные изменения являются сезонными и характерны в основном для весеннего периода, когда наблюдается опреснение поверхностного слоя морской воды вследствие стока талых вод с материка. Продолжительность

сезонных колебаний солёности составляет 7–14 дней [37, 48]. Способность *F. vesiculosus* существовать в подобном градиенте солёности связана с возможностью быстрой регуляции осмотического давления в клетках. Осморегуляция в клетках растений может осуществляться двумя путями: при кратковременных изменениях солёности - за счёт динамики водного баланса (быстрый, пассивный механизм), при длительном опреснении запускается метаболически контролируемый механизм, в процессе которого происходит изменение концентрации ионов в цитоплазме и баланса органических веществ, таких как низкомолекулярные метаболиты, маннит, полиолы, сахара, бетаины и др. [64, 99, 128, 137, 145, 147, 151, 166, 176, 184, 195, 221]. В литературе часто обсуждается участие аминокислот в осморегуляции у водорослей [55, 128, 138, 145, 175, 177, 193].

Проведённое исследование показало, что влияние солёности на концентрацию САК у *F. vesiculosus* не однозначно и зависит от фазы развития водоросли. Фаза развития определяет направленность метаболических процессов организма, что, в свою очередь, влияет на биохимический состав клеток. Так в фазу активации роста (когда рост только запускается) происходит повышение метаболической активности клеток водорослей, интенсивности фотосинтеза, происходит накопление необходимых для роста соединений [41, 197]. При этом синтез белка снижен, поскольку ростовые процессы все еще замедлены. САК, вероятно, накапливаются в этот период в качестве строительных соединений (см. глава 3.4). Такие аминокислоты, как аспарагиновая кислота, аланин, глутаминовая кислота помимо выполнения строительных функций могут использоваться растениями как энергетический субстрат и запасной источник азота и углерода благодаря тесной связи с циклом трикарбоновых кислот [102, 125, 160]. В фазу роста происходит активный синтез белка для построения новых клеток. Используются запасённые до этого САК, а также синтезируются новые. При этом у водорослей в условиях распреснения расход аминокислот происходит медленнее, по сравнению с фукусами из мористых мест. Об этом свидетельствуют результаты ранее проведённого эксперимента по влиянию солёности на скорость

роста *F. vesiculosus* [184]. Вероятно, что в зависимости от фазы развития водоросли влияние солёности будет проявляться по-разному. В данном случае солёность будет выступать второстепенным фактором, который оказывает корректирующее влияние на особенности (характер) накопления САК.

При пониженной солёности воды аккумуляция САК протекает медленнее, что связано с замедлением скорости их синтеза. Также пониженная солёность среды замедляет рост талломов *F. vesiculosus* [184], а значит и снижается интенсивность использования аминокислот. В фазу активации роста у водорослей из более распреснённых акваторий скорость синтеза и накопления аминокислот протекает медленнее, чем у водорослей из мористых мест произрастания. А в фазу роста скорость использования аминокислот на синтез белка оказывается более высокой у водорослей при морской солёности, чем у водорослей из распреснённых районов. В результате у водорослей при интенсивном росте в условиях распреснения САК расходуются медленнее, что приводит к увеличению их концентрации в клетках. У водорослей из мористых акваторий из-за более интенсивного процесса синтеза белка и, соответственно, роста таллома, в фазу роста определяется более низкая концентрация САК в клетках таллома (таблица А.6).

На концентрацию аргинина и аспарагиновой кислоты солёность оказывала одинаковое влияние независимо от фазы развития. Вероятнее всего, концентрация ионов и электролитов в клетке, которая у водорослей при разной солёности различна, влияет на активность ферментов синтеза и деградации этих аминокислот одинаково, вне зависимости от направленности метаболических процессов. В результате концентрация аспарагиновой кислоты повышается в разных участках таллома *F. vesiculosus* при пониженной солёности, а аргинина – снижается (таблица А.6).

Обратная направленность в изменении концентрации аргинина и пролина при пониженной солёности у *F. vesiculosus* может быть связана с изменением пути синтеза пролина: синтез происходит не через глутаминовую кислоту, а через орнитинный цикл с использованием аргинина. Синтез пролина через

орнитинный цикл считается менее энергозатратным. Подобные изменения в пути синтеза пролина были описаны для антарктической диатомовой водоросли *Flagilariopsis cylindrus* при повышенной солёности воды (70 ‰) [144].

Изменения концентрации САК под влиянием различной солёности было показано для одноклеточных и многоклеточных водорослей в ряде работ [75, 99, 128, 145, 155, 193, 195, 219]. В гипоосмотических условиях концентрация аминокислот изменялась, но характер изменения был видоспецифичным. У одних видов водорослей концентрации глутаминовой кислоты, лизина и пролина увеличивались при снижении солёности воды, у других – понижались. При этом суммарная концентрация САК у водорослей при пониженной солёности снижалась [99, 128, 145, 193, 219].

Изменения концентрации САК у водорослей при пониженной солёности связывают с нарушением экспрессии генов ферментов, участвующих в ассимиляции ионов аммония и синтезе первичных аминокислот [99]. Для наземных растений показано изменение активности ферментов, связанных с ассимиляцией неорганических форм азота (нитратредуктаза, нитритредуктаза, глутаминсинтетаза, глутаматсинтетаза, глутаматдегидрогеназа) в ответ на смену солёности [166]. Возможно, данный механизм действует и у водорослей.

САК в условиях осмотической нестабильности могут выполнять различные функции в клетке. Прежде всего, как водорастворимые электролиты аминокислоты принимают участие в регулировании осмотического потенциала. Также САК участвуют в стабилизации мембран и защите ферментов, могут накапливаться как запасные источники азота и углерода для последующего восстановления клеток или клеточных структур в случае повреждения, инактивировать образующиеся активные формы кислорода, нормализовывать окислительно-восстановительный потенциал цитоплазмы [99, 147, 151, 166]. Важным условием накопления тех или иных аминокислот в клетке является отсутствие у них ингибирующего воздействия на внутриклеточные ферменты [166].

Полученные данные по влиянию опреснения на концентрацию САК у *F. vesiculosus* в фазе роста согласуются с ранее проведёнными работами на этом виде водорослей из природных популяций и экспериментальных исследованиях. Можно сказать, что выявленные повышенные концентрации общих аминокислот, белка и общего азота у фукусов в условиях пониженной солёности связаны, в том числе, и с увеличением концентрации САК [175, 177]. Также согласуются данные по изменению концентрации свободного пролина: как в данном исследовании, так и в ранее проведённом [138] более высокая концентрация пролина была обнаружена у водорослей из распреснённых акваторий. Изменение концентрации САК может быть результатом иного соотношения форм углерода (CO_2 , HCO_3^- , CO_3^{2-}) или выступать как ответная реакция на снижение концентрации маннита, ионов и минералов в клетках *F. vesiculosus* при пониженной солёности [174, 176, 177].

Таким образом, было показано, что солёность морской воды оказывает влияние на концентрацию САК в апикальных участках и средней части таллома *F. vesiculosus*. Характер ответной реакции зависит от фазы развития водоросли: в фазу роста концентрация большей части САК в апексах и средней части таллома выше у водорослей из распреснённых мест, в фазу активации роста наблюдалась обратная тенденция.

3.7 Экспериментальные исследования

3.7.1 Влияние отрицательных температур на концентрацию пролина у *F. vesiculosus*

У всех талломов, которые подвергались воздействию низких температур, с увеличением продолжительности воздействия концентрация пролина повышалась. Увеличение концентрации свободного пролина у экспериментальных образцов, включая период адаптации к условиям лаборатории, составило 1,7–2,8 раза относительно начальных значений. В контрольных образцах происходило аналогичное увеличение концентрации

свободного пролина, и к концу эксперимента она составляла 120,8–126,6 мкг·г⁻¹ сырой массы водорослей, что в 2,7–2,8 раза выше, по сравнению с концентрацией у *F. vesiculosus* до начала эксперимента (рисунок 3.12).

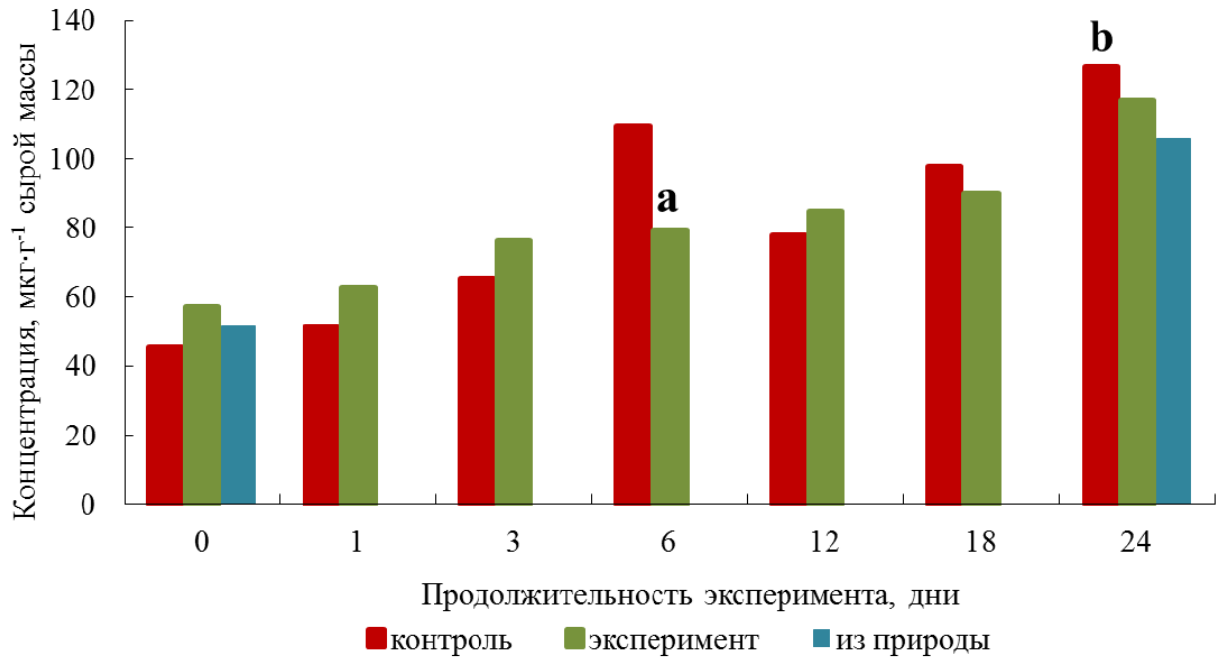


Рисунок 3.12 – Изменение концентрации свободного пролина у *F. vesiculosus* в эксперименте по воздействию отрицательных температур. Данные представлены в виде медианы. а – значимые различия экспериментальных значений с контрольными, b – значимые различия контрольных значений с природными

Также было выявлено изменение концентрации свободного пролина у водорослей из естественных условий произрастания за период проведения эксперимента: с октября по ноябрь концентрация данной аминокислоты у фукусов увеличилась в 2,1 раза, составив 105,8 мкг·г⁻¹ сырой массы водорослей. Концентрация свободного пролина у водорослей в ноябре значимо отличалась от октябрьских значений ($U_{min} = 8, p \leq 0,00001$) и значений в контрольных образцах ($U_{min} = 36,5, p = 0,023$) согласно рассчитанному критерию Манна-Уитни, но различия с экспериментальными фукусами отсутствовали ($U_{min} = 43,5, p = 0,057$).

Опубликованные данные указывают на участие САК в защите растений при воздействии низких температур и в повышении их морозостойкости. Так у высших растений наблюдается увеличение концентрации пролина, аланина, серина, глутамина, аспарагина и глицина при воздействии низких температур

[210]. У красной водоросли *Mastocarpus stellatus* и зелёной водоросли *Prasiola crispa* свободный пролин выполняет роль криопротектора и повышает устойчивость водорослей к воздействию низких отрицательных температур [118, 126]. Концентрация пролина у указанных водорослей значительно повышалась в холодный период года.

В проведённом эксперименте воздействие отрицательных температур не вызвало значительных увеличений концентрации свободного пролина у *F. vesiculosus* ни в течение первых суток, ни при дальнейшем воздействии в сравнении с контрольными образцами. Повышение концентрации аминокислоты было характерно для всех водорослей, как контрольной группы, так и экспериментальной. Более того, в природных условиях также происходило повышение концентрации данной аминокислоты. Изменение условий обитания водорослей в условиях лаборатории и воздействие на них отрицательных температур не вызвало резких изменений концентрации свободного пролина в клетках *F. vesiculosus*. Отсутствие различий между экспериментальными и природными водорослями связаны с тем, что они находились в одной фазе развития, контролируемой эндогенными ритмами [27]. У многолетних высших растений осенью в процессе естественного «закаливания», которое возникает из-за снижения температуры в ночное время и повышения в дневные часы, формируется морозоустойчивость, благодаря которой они выживают в период отрицательных температур [70]. Скорее всего, в клетках водорослей под воздействием изменения уровня освещённости, изменения спектрального состава света и постепенного понижения температуры запускаются фотопериодические реакции подготовки к зимнему периоду. У собранных осенью водорослей, вероятно, уже были запущены программы для подготовки к воздействию отрицательных температур в период отлива. Поэтому созданные нами искусственные условия совпали с природными программами подготовки водорослей к условиям зимы и не повлекли за собой значительных изменений концентрации пролина у водорослей.

Накопление свободного пролина в осенний период, которое происходило во всех исследованных талломах *F. vesiculosus*, как в природных условиях, так и в эксперименте, связано с подготовкой водорослей к периоду низких температур. Годовая динамика пролина в средней части таллома *F. vesiculosus* также показала повышение концентрации данной аминокислоты в период с октября по ноябрь (см. глава 3.4). Скорее всего, пролин аккумулируется в клетках *F. vesiculosus* не в качестве основного криопротектора, поскольку в зимний период его концентрация у водорослей низкая (см. глава 3.4), а как антиоксидант, поскольку осенью перепады температур от минусовых ночью до плюсовых днём в сочетании с высокой интенсивностью освещения могут приводить к образованию активных форм кислорода. Согласно проведённым ранее исследованиям, пролин способен улавливать и инактивировать свободные радикалы, в том числе активные формы кислорода, которые образуются при различных абиотических стрессах в клетках растений [130, 168]. Также пролин участвует в защите и стабилизации ферментов, которые принимают активное участие в удалении активных форм кислорода и активирует альтернативные пути детоксикации [212].

В результате проведённого эксперимента было выявлено, что осенью накопление свободного пролина в клетках *F. vesiculosus* происходит как под резким воздействием отрицательных температур (водоросли в эксперименте), так и при постепенном снижении температуры до отрицательных значений (водоросли в природной среде). Накопление свободного пролина можно рассматривать как ответную реакцию организма на сезонное понижение температуры. Процесс этот начинается, вероятно, уже в августе, когда происходит изменение спектрального состава света и снижение его интенсивности, уменьшение фотопериода и понижение температуры.

3.7.2 Влияние опреснения на качественный состав и концентрацию САК у *F. vesiculosus*

В ранее проведённых исследованиях было показано, что в природных условиях солёность воды может оказывать влияние на концентрацию САК у *F. vesiculosus*. Но поскольку на водоросли, произрастающие в природных

условиях, воздействует комплекс факторов и однозначно выявить влияние солёности невозможно, то был поставлен эксперимент в лабораторных контролируемых условиях по исследованию влияния солёности как единственного изменяющегося фактора.

Для исследования брали *апикальные* участки талломов водорослей. Пул САК исследуемых водорослей был представлен 16 аминокислотами (отдельного определения цистина с цистеином и триптофана не проводили). В наибольшей концентрации содержались глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, аланин, тирозин и фенилаланин. Вместе они составляли от 71,5 % до 88,5 % от суммы САК у водорослей.

В ходе эксперимента было установлено, что при содержании водорослей в морской воде солёностью 10 ‰ и 20 ‰ концентрация САК увеличивается. Основные изменения произошли в течение первых суток воздействия. У водорослей, содержащихся в воде солёностью 20 ‰, максимальное увеличение концентрации САК произошло в первые часы эксперимента (через 3 и 12 часов), в дальнейшем разница с контролем снижалась, однако даже через 14 суток она оставалась достоверно выше (в 1,5 раза) (рисунок 3.13).

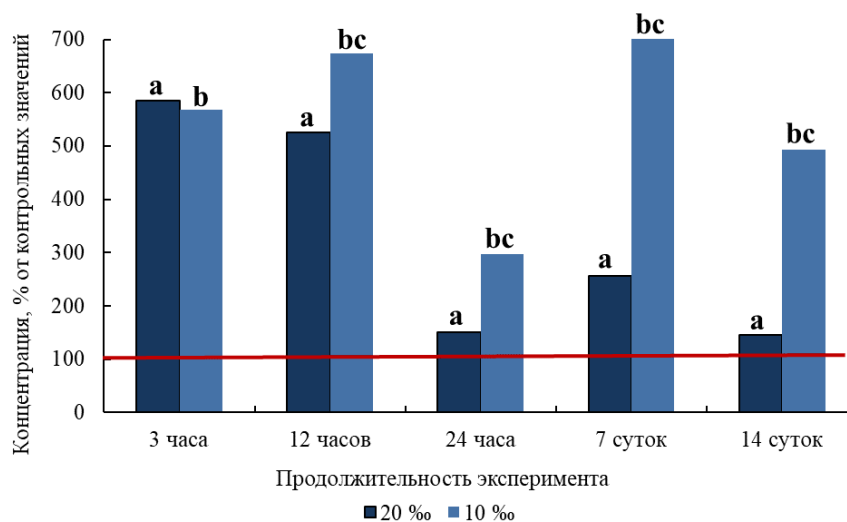


Рисунок 3.13 – Концентрация суммы САК у *F. vesiculosus* при пониженной солёности воды. Данные представлены в виде процентного соотношения медиан концентраций аминокислот при пониженной солёности к медианам концентраций аминокислот у контрольных образцов водорослей. а – значимые отличия 20 ‰ от контроля. b – значимые отличия 10 ‰ от контроля. c – значимые отличия 10 ‰ от 20 ‰. Красной линией обозначена концентрация САК у контрольных образцов водорослей

При нахождении водорослей в воде солёностью 10 ‰ значительное увеличение концентрации САК происходило не только в течение первых часов влияния опреснённой воды, но и при продолжительном воздействии. Через 24 часа их концентрация была в 3,0 раза выше по сравнению с контролем. В дальнейшем разница с контролем по суммарной концентрации САК увеличилась и через 7 суток и 14 суток была в 7,2 раза и 4,9 раза выше, чем в контроле и в 2,8 раза и 3,4 раза выше, чем у водорослей в воде при солёности 20 ‰ (рисунок 3.13).

Что касается изменения концентрации отдельных САК, то за первые часы эксперимента произошло увеличение концентрации абсолютно всех САК у водорослей при пониженной солёности (при 20 ‰ и 10 ‰). Значительно возросли, по сравнению с контрольными образцами, концентрации аспарагиновой и глутаминовой кислот, аланина, пролина, треонина и лизина (более чем в 10 раз) за первые 3 часа воздействия пониженной солёности. Концентрации остальных САК увеличились в 1,9–9,1 раза. В конце первых суток эксперимента различия в концентрации отдельных САК у водорослей при разной солёности также присутствовали, но были уже не столь значительными (выше в 1,4–6,4 раза). Длительное нахождение *F. vesiculosus* в воде пониженной солёности в основном способствовало постепенному снижению различий в концентрации отдельных аминокислот между вариантами. Тем не менее, значимые различия концентрации САК с контрольными образцами сохранялись и были более высокими у растений, находящихся в воде с солёностью 10 ‰ (рисунок 3.14, таблица 3.13).

Концентрация группы гидрофильных полярных аминокислот также увеличилась у водорослей, находившихся в опреснённой морской воде. Более высокая концентрация данной группы аминокислот по сравнению с контролем сохранялась у водорослей на протяжении всего эксперимента (таблица 3.13).

Все идентифицированные САК по характеру изменений их концентрации можно разделить на 2 группы.

К первой относились аминокислоты, концентрации которых значимо отличались от контроля как при краткосрочном воздействии (в течение суток), так и при продолжительном (до 14 суток) воздействии. Это доминирующие

аминокислоты (глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, аланин), а также изолейцин с лейцином, пролин, тирозин и треонин.

Таблица 3.13 – Концентрация САК у *F. vesiculosus* при пониженной солёности воды, % от контроля*

Аминокислота	3 часа		12 часов		24 часа		7 суток		14 суток	
	20 ‰	10 ‰	20 ‰	10 ‰	20 ‰	10 ‰	20 ‰	10 ‰	20 ‰	10 ‰
Аргинин	837,87 ^a	616,07 ^{ab}	822,30 ^a	717,70 ^{ab}	151,96 ^a	176,58 ^{ab}	159,48 ^a	141,94 ^a	105,16	99,71
Валин	431,82 ^a	532,07 ^{ab}	453,31 ^a	448,32 ^a	160,39 ^a	222,91 ^{ab}	534,15 ^a	787,70 ^{ab}	106,48	318,35 ^{ab}
Гистидин	0,002	0,003	124,30	246,75 ^{ab}	99,94	139,45 ^{ab}	628,94 ^a	3329,83 ^{ab}	123,73	281,57 ^{ab}
Глицин	0,015	0,013	523,12 ^a	321,43 ^{ab}	154,01 ^a	254,65 ^{ab}	113,90	360,14 ^{ab}	108,46	247,35 ^{ab}
Изолейцин+ Лейцин	545,45 ^a	669,06 ^{ab}	436,28 ^a	424,51 ^a	218,98 ^a	321,21 ^{ab}	146,12 ^a	689,67 ^{ab}	188,07 ^a	520,18 ^{ab}
Лизин	1215,68 ^a	1159,80 ^a	538,03 ^a	196,50 ^{ab}	88,28	202,18 ^{ab}	125,21	2596,85 ^{ab}	104,12	537,65 ^{ab}
Метионин	нет данных	нет данных	0,008	0,010 ^b	146,01 ^a	182,30 ^{ab}	149,37 ^a	97,99 ^b	56,79 ^a	93,44 ^b
Серин	914,79 ^a	739,30 ^{ab}	255,53 ^a	264,04 ^a	153,53 ^a	276,75 ^{ab}	186,94 ^a	530,87 ^{ab}	105,20	281,36 ^{ab}
Треонин	1276,64 ^a	1157,15 ^a	858,04 ^a	1256,90 ^{ab}	186,55 ^a	328,11 ^{ab}	134,88 ^a	512,72 ^{ab}	175,97 ^a	344,08 ^{ab}
Гидрофильные полярные	644,60 ^a	626,07 ^a	675,55 ^a	928,29 ^{ab}	141,69 ^a	318,12 ^{ab}	356,35 ^a	1015,08 ^{ab}	155,82 ^a	609,47 ^{ab}

Примечания

- 1) * – данные представлены в виде процентного соотношения медиан концентраций аминокислот при пониженной солёности к медианам концентраций аминокислот у контрольных образцов водорослей;
- 2) ^a – варианты, значимо отличающиеся от контрольных значений;
- 3) ^b – варианты, значимо отличающиеся от водорослей при 20 ‰;
- 4) курсивом обозначена медиана концентрации аминокислот в мг·г⁻¹ сухой массы (поскольку эти аминокислоты не фиксировались в контроле в течение 3–12 часов эксперимента)

Во вторую группу вошли аминокислоты, концентрации которых значимо отличались от контроля во всех вариантах солёности лишь в течение первых суток эксперимента. К этой группе относятся фенилаланин, валин, серин, лизин, глицин, аргинин и метионин. Более длительное пребывание водорослей при 20 ‰ не приводило к существенным различиям концентраций этих САК по сравнению с контрольными образцами. При этом у водорослей, находившихся при 10 ‰, концентрация этой группы аминокислот всё же значимо отличалась от контроля (лишь у метионина различия с контролем и 10 ‰ не выявлены при экспозиции 7 и 14 суток, а у аргинина – при экспозиции 14 суток).

Исключением из этих групп был гистидин, который по концентрации отличался от контроля спустя 3 часа и 7 суток, а через 12 часов, 24 часа и 14 суток отличия наблюдались лишь в варианте с 10 ‰ (рисунок 3.14, таблица 3.13).

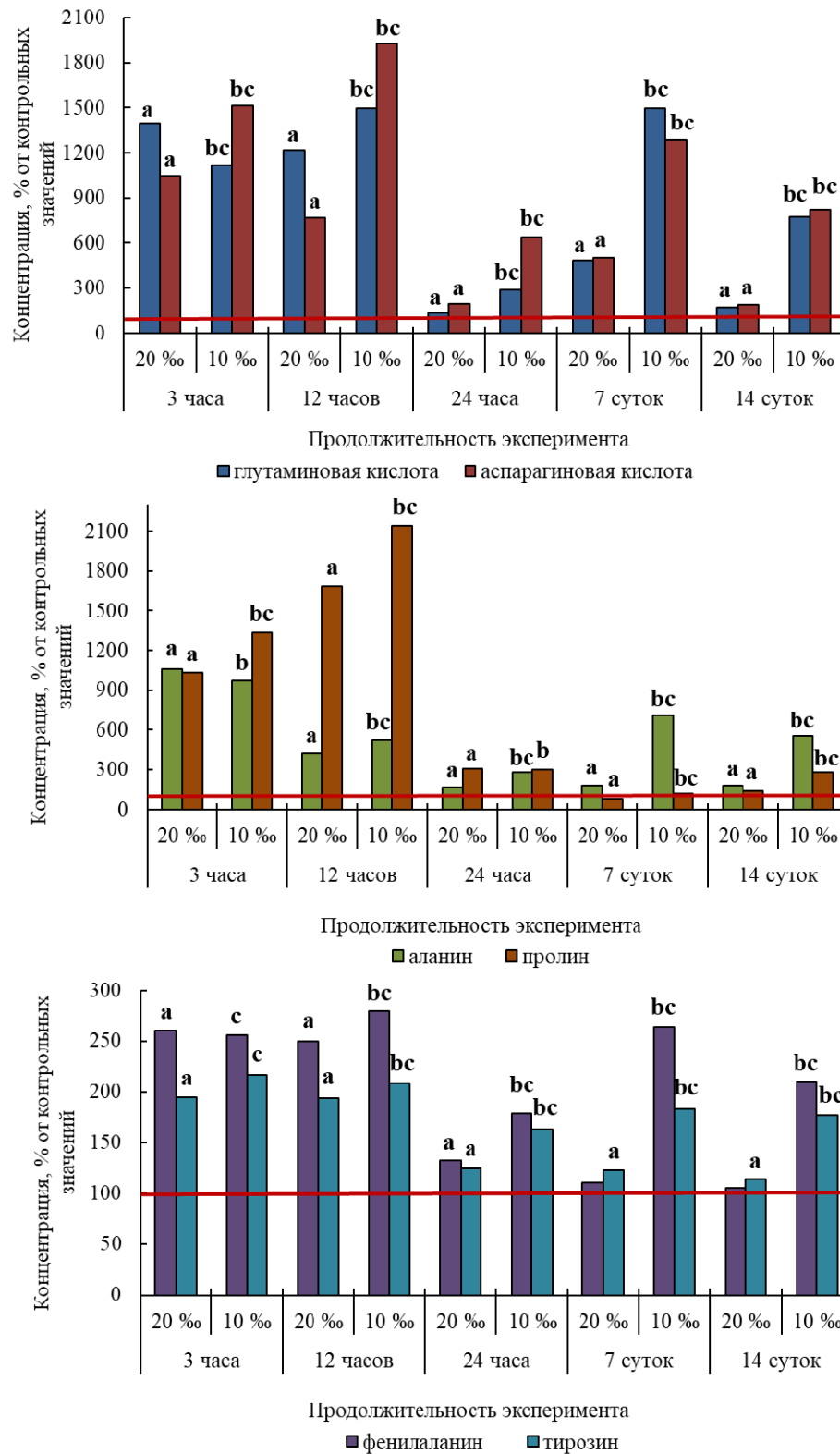


Рисунок 3.14 – Концентрация доминирующих САК и пролина у *F. vesiculosus* при пониженной солёности воды. Данные представлены в виде процентного соотношения медиан концентраций аминокислот при пониженной солёности к медианам концентраций аминокислот у контрольных образцов водорослей. а – значимые отличия 20 % от контроля. b – значимые отличия 10 % от контроля. с – значимые отличия 10 % от 20 %. Красной линией обозначена концентрация САК у контрольных образцов водорослей

Длительное нахождение водорослей при пониженной солёности (14 суток, 20 ‰ и 10 ‰) приводило к изменению соотношения отдельных САК в общем пуле аминокислот: повышалось относительное содержание глутаминовой и аспарагиновой кислот, а доля ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина), валина, пролина, серина, глицина, аргинина, метионина и гистидина снижалась (рисунок 3.15).

Относительное содержание гидрофильных полярных аминокислот повышалось как в контроле, так и в эксперименте. Длительное нахождение водорослей при низкой солёности приводило к более высокому относительному содержанию данной группы аминокислот по сравнению с контролем. Смены доминирующих аминокислот у водорослей в процессе эксперимента не происходило. Поэтому основные изменения в сумме САК обусловлены динамикой доминирующих аминокислот.

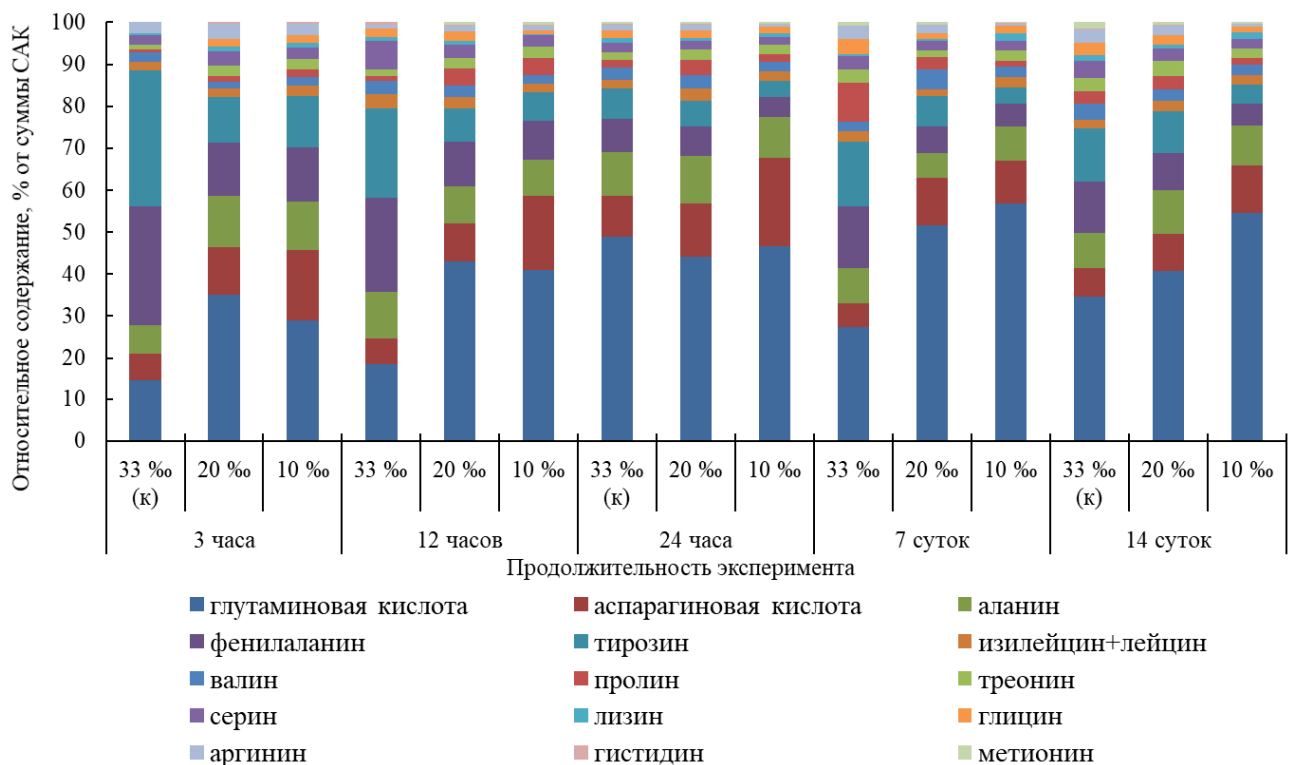


Рисунок 3.15 – Относительное содержание САК у *F. vesiculosus* в эксперименте по влиянию распреснения (33 ‰ (к) – контрольные образцы). Данные представлены в виде процентного соотношения медиан концентраций отдельных аминокислот к медианам суммарной концентрации САК у водорослей

Анализ полученных результатов с применением критерия Краскела-Уоллиса показал, что солёность воды оказывает значимое влияние на концентрацию САК в клетках *F. vesiculosus* начиная с первых часов воздействия и на протяжении всего эксперимента. Исключение составила группа гидрофильных полярных аминокислот, на концентрации которых первые 3 часа воздействия воды пониженной солёности не оказывали значимого влияния. Концентрации метионина за первые 3 часа воздействия в эксперименте и в контроле были ниже возможностей определения прибора. А концентрация аргинина спустя 14 суток воздействия пониженной солёности на фукус значимо не отличалась как при 20 ‰, так и при 10 ‰ от контрольных образцов. Рассчитанные коэффициенты ранговой корреляции Спирмена показали наличие отрицательной зависимости концентрации САК у *F. vesiculosus* от солёности воды. Наиболее сильно эта зависимость проявилась начиная с 12 часов воздействия и до конца эксперимента (таблица А.7).

Солёность воды является одним из важных факторов среды, который оказывает существенное влияние на физиологические процессы и биохимический состав водорослей. Механизмы поддержания осмотического давления в клетках у разных растений связаны с изменением концентрации неорганических и органических растворимых соединений. В качестве органических осмолитов у растений чаще всего выступают азотистые соединения, органические кислоты, сахара и полиолы [166]. Среди азотсодержащих веществ в качестве осморегуляторов встречаются амиды, амины, аминокислоты, иминокислоты, белки, бетаины и полиамины. У высших растений при засолении повышается концентрация таких САК, как аланин, аргинин, валин, глицин, лейцин, орнитин, пролин, серин, цитруллин, а также амидов аминокислот [166, 210]. Для эвригалинных и морских одноклеточных и многоклеточных водорослей также характерно повышение САК в условиях гиперсолёности. Водоросли накапливали аргинин, аспарагиновую кислоту, аланин, гистидин, глицин, глутаминовую кислоту, лизин, пролин, треонин, ароматические аминокислоты [75, 99, 105, 128, 144, 145, 193]. Но в природе для среды обитания морских водорослей-макрофитов

в основном характерно не повышение солёности, а её понижение. Особенно это актуально для видов, обитающих в зоне литорали.

В ранее проведённых работах было показано, что у фукусов, произрастающих в условиях морской солёности и в распреснённых водах, наблюдаются различия в концентрации общего азота, общей концентрации аминокислот (связанных и свободных), свободного пролина и аммиака [138, 175]. Но, согласно этим работам, однозначно утверждать, что на показатели влияет только солёность нельзя, поскольку в природной среде найти для сравнения акватории отличающиеся исключительно по одному внешнему фактору невозможно. Проведённые экспериментальные работы на *F. vesiculosus* показали, что произрастание при пониженной солёности приводит к снижению концентрации в клетках фукусов сульфатов, изменению концентрации натрия, хлора, зольности, воды, увеличению общего азота, абсолютных и относительных количеств отдельных аминокислот, снижению концентрации маннита и электролитов [174, 176, 177]. Поскольку САК являются водорастворимыми соединениями, то они также могут влиять на осмотический потенциал внутри клетки. Гидрофильные полярные аминокислоты помимо этого могут способствовать стабилизации и устойчивости белковых молекул при изменении водного режима внутри клеток. Благодаря заряженности молекул данные соединения также принимают участие в регулировании кислотно-щелочного баланса (рН) внутриклеточной среды и тем самым могут оказывать влияние на направленность и скорость протекания различных метаболических процессов (цикл трикарбоновых кислот, синтез АТФ, синтез различных метаболитов). Выполненные ранее исследования [138, 174–177] показали, что солёность влияет на биохимический состав *F. vesiculosus*, но как отражается это воздействие на качественном составе и концентрации САК показано не было.

Данное исследование показало существенное влияние солёности воды на концентрацию и соотношение САК в клетках *F. vesiculosus*. Изменения проявляются уже спустя 3 часа от начала воздействия: происходит значительное увеличение концентрации как доминантных аминокислот, так и остальных

составляющих пул САК. Особенно сильно это отражается на концентрации аспарагиновой и глутаминовой кислот, аланина, пролина, треонина и лизина. Разница с контролем у этих аминокислот составляет 9,7–15,2 раза (рисунок 3.14, таблица 3.13). Уже спустя 3 часа воздействия опреснённой воды на водоросли для многих САК была определена обратная зависимость их концентраций от солёности воды, а через 12 часов подобная тенденция наблюдалась практически для всех идентифицированных САК у водорослей (таблица А.7). Продолжительное нахождение *F. vesiculosus* в условиях пониженной солёности снижает различия в концентрации САК. Это может свидетельствовать об адаптации и стабилизации некоторых метаболических процессов. Но для доминирующих аминокислот (глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, аланина и тирозина), а также изолейцина с лейцином и пролина значимые различия с контролем присутствуют в течение всего эксперимента. Эти данные подтверждают наблюдаемые различия в общей концентрации аминокислот, свободного пролина и остальных САК у *F. vesiculosus* из акваторий с разной солёностью воды [138, 175, глава 3.6.2]. А также свидетельствуют о том, что повышение общей концентрации азота и пула аминокислот у *F. vesiculosus* при нахождении в гипосолёных условиях, которое было ранее показано экспериментально, происходит, в том числе, за счёт САК [176, 177].

Реакция водорослей на гипоосмотическую среду является видоспецифичной. Изменений в концентрации САК, которые были выявлены у *F. vesiculosus* в данном исследовании, у других видов водорослей не наблюдалось. Как показали ранее опубликованные работы, у водорослей в условиях пониженной солёности было выявлено повышение концентрации одних САК на фоне снижения других. Так у *Cladophora vagabunda* при солёности 10 ‰ происходило снижение концентрации аспарагиновой кислоты, аргинина, валина, глицина, гистидина и треонина, но быстрое увеличение глутаминовой кислоты и лизина [193]. Подобные же изменения были зафиксированы и для *Ectocarpus siliculosus*, у которой нахождение в условиях пониженной солёности (4 ‰) способствовало значительному снижению концентрации доминирующих

аминокислот (аланина, аспарагиновой кислоты, глутамина и глутаминовой кислоты) и повышению ароматических аминокислот, аминокислот с разветвлённой боковой цепью и треонина [92]. Снижение концентрации свободного пролина в сильно распреснённой морской воде (от 5–7 до 0 ‰) было выявлено у зелёной водоросли *Ulva pertusa* и красной водоросли *Pirropia haitanensis* [128, 219]. А снижение солёности до 15 ‰ приводило к увеличению концентрации свободного пролина в 2 раза в клетках красной водоросли *Gracilaria corticata* [145].

Увеличение или снижение концентрации САК в клетках водорослей в гипоосмотических условиях связывают с изменением экспрессии генов ферментов, участвующих в ассимиляции ионов аммония и синтезе первичных аминокислот [99]. Проведённый ранее эксперимент на *F. vesiculosus* показал, что в разбавленной морской воде общая концентрация аминокислот (свободные и связанные вместе) в талломе увеличивается [177]. Это может свидетельствовать о том, что в условиях пониженной солёности у фукуса концентрация аминокислот повышается за счёт образования новых соединений. Но повышение происходит не только за счёт их синтеза *de novo*, но также и за счёт других процессов, например, транспорта из других участков таллома (перераспределением между участками таллома) и снижением их расходования на синтез иных соединений [120]. При этом энергии дыхания в гипоосмотических условиях может быть достаточно на синтез мономерных соединений, тогда как образование полимерных молекул, таких как белки, будет замедлено. У *F. vesiculosus* из Ирландского моря при выращивании при пониженной солёности определено снижение скорости роста, а также снижение прироста длины таллома [79, 184], что, вероятнее всего, связано с замедлением синтеза белка. Скорее всего, биосинтез САК совместно с замедлением синтеза белков приводит к быстрому увеличению их концентрации в клетках водорослей при пониженной солёности [139]. Увеличение может быть результатом изменения соотношения форм углерода (CO_2 , HCO_3^- , CO_3^{2-}) при распреснении морской воды или выступать как ответная реакция на снижение концентрации маннита, ионов и минералов в

клетках *F. vesiculosus* при пониженной солёности [174, 176, 177]. Являясь амфотерными водорастворимыми соединениями, САК будут принимать участие в регуляции осмотического потенциала и pH внутренней среды клетки и, вероятно, являются одной из составляющих механизма адаптации водорослей к пониженной солёности.

В природе значительное распреснение (до 10 ‰) морской воды встречается редко. Гораздо чаще наблюдается понижение солёности на треть или при сильном половодье и быстром таянии льда и снега на половину: с 33 ‰ до 20 ‰ на мористых побережьях или с 15–20 ‰ до 7–10 ‰ в литоральной зоне ближе к кутовым частям губ и заливов. По продолжительности понижение солёности морских прибрежных вод может быть кратковременным в течение приливно-отливного цикла в результате осадков или стока пресной воды с материка, либо долговременным - в период таяния снежного покрова и повышенного речного стока.

При кратковременном воздействии опреснённых вод на *F. vesiculosus* (в течение приливно-отливного цикла), вероятно, в процессе адаптации к пониженной солёности будут задействованы практически все САК. В нашем случае это аминокислоты, отнесённые к 1 и 2 группам. При длительном опреснении в весенний период основную функцию в поддержании осмотического потенциала клеток и регулировании кислотно-щелочного баланса внутриклеточной среды, вероятно, будут выполнять САК, которые отнесены к 1 группе (глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, аланин, изолейцин с лейцином, пролин, тирозин, треонин). Их концентрации значительно отличались при распреснении до 20 ‰ и 10 ‰ не только в течение первых суток воздействия, но и при продолжительном воздействии (до 14 суток).

Длительное нахождение водорослей при пониженной солёности приводило к изменениям в соотношении аминокислот у *F. vesiculosus*. Повышалась доля аспарагиновой и глутаминовой кислот, а относительное содержание остальных снижалось. Подобные изменения с увеличением относительного содержания аспарагиновой кислоты, аспарагина, глутаминовой кислоты, глутамина и аланина

наблюдаются в условиях повышенной концентрации азота в среде произрастания водорослей [77, 187]. Возможно, это свидетельствует о снижении потребностей водоросли в азоте, как результат замедления синтеза белка и роста растений при пониженной солёности.

Повышенная концентрация САК у водорослей при солёности 20 ‰ и 10 ‰ в эксперименте, а также наблюдаемые в природных условиях более высокие концентрации САК у водорослей из распреснённых вод, свидетельствуют об их участии в осморегуляции у *F. vesiculosus*. Гидрофильные полярные аминокислоты, помимо этого, вероятно, участвуют в регуляции кислотно-щелочного баланса внутриклеточной среды. Свободная глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота и аланин выполняют основную роль в осморегуляции у *F. vesiculosus* при изменении осмотического потенциала среды. Более значительные изменения концентрации САК фиксируются у водорослей в первые часы воздействия воды пониженной солёности. Продолжительное пребывание водорослей в морской воде пониженной солёности влияет на соотношение САК, способствуя увеличению доли глутаминовой и аспарагиновой кислот и снижению относительного содержания остальных составляющих пул САК. Формирование ответной реакции на пониженную солёность затрагивает несколько процессов, вызывает изменение интенсивности пластического и энергетического обмена: через ЦТК – увеличение глутаминовой кислоты, пролина (через синтез α -кетоглутарата) и аспарагиновой кислоты (через синтез оксалоацетата), цикл Кальвина – повышение ароматических аминокислот через шикиматный цикл, и превращение пирувата в ряд других аминокислот (например, аланин).

В природных условиях краткосрочного понижения солёности, в клетках *F. vesiculosus* для поддержания гомеостаза будут принимать участие большинство САК. При продолжительном опреснении часть аминокислот (глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, аланин, изолейцин с лейцином, пролин, тирозин, треонин) остаётся в повышенной концентрации, что говорит об их участии в осморегуляции при пониженной солёности в условиях длительного воздействия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Адаптация животных и растительных организмов к обитанию в литоральной зоне заключается в наличии эволюционно выработанного и генетически закреплённого комплекса приспособлений, позволяющего им поддерживать свой метаболизм на физиологически активном уровне в условиях регулярно и значительно меняющихся факторов внешней среды. Этот комплекс приспособлений включает физиологические и биохимические перестройки, в которых участвуют разные группы веществ: ферменты, низкомолекулярные метаболиты, полисахариды и т.д. Согласно проведённому исследованию можно сделать вывод, что у *F. vesiculosus* в формировании ответных реакций, которые обеспечивают его устойчивость и приспособленность к обитанию в зоне литорали, принимают участие и САК.

Результаты исследования показали, что концентрация САК у водорослей является динамичным показателем, который значительно изменяется как в зависимости от внутренней направленности метаболических процессов (фазы развития), так и под влиянием факторов среды.

У проанализированных нами трёх представителей рода *Fucus* комплекс САК не отличается по составу, но суммарная концентрация и соотношение аминокислот различно. Основную часть пула САК у *F. vesiculosus* составляют 5–6 аминокислот, которые могут сменяться (одна аминокислота меняется на другую) в зависимости от условий произрастания, участка таллома и времени (фаза приливо-отливного цикла, сезон). Доминирующими САК у *F. vesiculosus* являются аланин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты, фенилаланин, пролин и серин. Преобладание этих аминокислот в составе пула САК характерно для многих видов водорослей [22, 95, 119, 122, 123, 125, 162, 187, 191, 213, 217, 222]. Возможно, высокая доля гидрофильных полярных САК у водорослей, произрастающих на литорали, является одним из приспособительных механизмов к их осушению в период отлива и определяет распределение водорослей по горизонтам литорали.

Анализ концентрации и распределения САК по разным участкам таллома *F. vesiculosus* был проведён впервые. По качественному составу пула САК участки таллома не отличались. Кроме стволиков, у которых были выявлены изменения в качественном составе САК в течение года. В средней части таллома колебания концентрации САК в течение года были минимальные, по сравнению с остальными участками таллома. Внешние условия и фаза развития водорослей оказывали влияние на концентрацию и перераспределение САК между участками таллома фукуса. Наибольшая концентрация САК была выявлена в апикальных участках таллома в летний период, в фазу роста водорослей, а минимальная – зимой в стволиках. Средняя часть таллома *F. vesiculosus* является местом синтеза и хранения запасного азота, накапливаемого водорослями в виде САК, в меньшей мере местом хранения является и ствол водорослей. Перераспределение САК в талломах *F. vesiculosus* регулируется таким образом, чтобы наиболее эффективно использовать доступные и необходимые для успешного роста и размножения ресурсы и энергию в суровых условиях Арктики.

В течение суток концентрация САК в клетках фукуса изменялась в 1,5-3,0 раза и имела волнообразный характер. Минимальные концентрации САК наблюдались у погружённых в воду водорослей, а максимальные – у осушенных в отлив водорослей. Вероятно, изменения концентрации САК в течение приливно-отливного цикла позволяют сохранять высокие темпы метаболизма при изменении внешних условий и максимально выгодно использовать внутренние ресурсы. Изменения концентрации САК могут быть связаны с направленностью метаболических процессов: переключением с синтеза и накопления углеводов в водной среде на синтез и накопление соединений с аминогруппой в воздушной среде за счёт внутренних резервов углеводов и азота (активация шикиматного пути, ЦТК, продукты которого участвуют в запасании азота, гликолатного цикла, как возможного источника углекислого газа – субстрата для процесса фотосинтеза).

Значительные изменения факторов среды в период приливно-отливного цикла, вероятно, будут способствовать большим колебаниям концентрации САК,

поскольку для поддержания гомеостаза может происходить как интенсивный синтез отдельных САК, так и их использование на синтез более сложных соединений при продолжительном и интенсивном негативном воздействии.

Сезонные исследования динамики САК в *F. vesiculosus* показали, что качественный состав пула в средней части таллома у водорослей не меняется в течение года. Концентрация аминокислот изменялась в 4,6 раза, от минимальной зимой до максимальной летом. Изменения концентраций отдельных САК были как небольшими (в 1,7 раза для серина), так и значительными (в 24,7 раза для фенилаланина). Для каждой фазы развития *F. vesiculosus* характерна своя динамика суммы САК. Полученные данные, совместно с литературными данными о динамике других физиологических показателей (скорость роста, метаболическая активность клеток, интенсивность фотосинтеза и дыхания), позволили скорректировать фазы развития водоросли *F. vesiculosus* и выделить следующие: покой, активация роста, рост, накопление запасных веществ.

В разные сезоны года происходит изменение соотношения пластического и энергетического обмена. В зимний период будет преобладать энергетический обмен за счёт ЦТК, так как активность фотосинтетических процессов снижена (цикл Кальвина). Весной и летом будет преобладать пластический обмен за счёт активации цикла Кальвина (предшественники ароматических аминокислот) и ЦТК (предшественники глутаминовой и аспарагиновой кислот).

Анализ динамики концентрации САК в талломах в течение года показал, что у *F. vesiculosus* в качестве одной из резервных органических форм азота выступают свободные глутаминовая и аспарагиновая кислоты, которые накапливаются в средней части таллома в мае-июне. В качестве транспортных форм органического азота по таллому у *F. vesiculosus*, вероятнее всего, могут выступать глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, аланин и пролин.

Мы предполагаем, что для каждого периода развития будет характерен свой ритм суточной динамики САК с определённым диапазоном изменений концентрации аминокислот. Поскольку, как показали исследования, концентрация САК связана с внешними факторами среды, метаболической

активностью клеток водорослей и общей направленностью метаболических процессов в каждый сезон года.

Проведённые исследования водорослей из природных популяций и экспериментальные работы выявили, что внешние условия, такие как температура окружающей среды и солёность воды, влияют на концентрацию и перераспределение САК по разным участкам таллома *F. vesiculosus*. Более высокая температура среды весной способствует увеличению концентрации САК в различных участках таллома *F. vesiculosus*. Низкие температуры окружающей среды сдвигают начало фазы роста у водорослей на более поздний срок и тем самым замедляют отток аминокислот из средней части в апикальные участки таллома *F. vesiculosus* весной. По соотношению САК в талломе *F. vesiculosus* можно судить о наступлении периода роста. Накопление свободного пролина у *F. vesiculosus* осенью можно рассматривать, как генетически закрепленный механизм подготовки водорослей к зимнему периоду. Характер изменения концентрации САК при понижении солёности зависит от фазы развития водоросли. В природе при краткосрочном понижении солёности воды в формировании ответной реакции *F. vesiculosus*, вероятно, будут принимать участие большинство САК, а при продолжительном воздействии – будут участвовать глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, аланин, изолейцин с лейцином, пролин, тирозин. Длительное нахождение водорослей в морской воде пониженной солёности способствует увеличению относительного содержания глутаминовой и аспарагиновой кислот. Формирование ответной реакции на пониженную солёность затрагивает несколько процессов, вызывает изменение интенсивности пластического и энергетического обмена: через ЦТК – увеличение глутаминовой кислоты, пролина (через синтез α -кетоглутарата) и аспарагиновой кислоты (через синтез оксалоацетата), цикл Кальвина – повышение ароматических аминокислот через шикиматный цикл, и превращение пирувата в ряд других аминокислот (например, аланин).

Группа гидрофильных полярных аминокислот может способствовать стабилизации белковых молекул в клетках водорослей при значительной потере воды талломами во время осушения в летний период.

Свободный пролин, помимо участия в осморегуляции и транспорте азота по таллому у *F. vesiculosus*, вероятно, выполняет роль антиоксиданта, поскольку его концентрация повышается весной и осенью, когда образование активных форм кислорода увеличивается из-за перепадов температур от минусовых ночью до плюсовых днём, в сочетании с сезонным уровнем освещения. Совместно с пролином в поддержании гомеостаза и подготовке водорослей к вегетационному периоду или периоду покоя (весной и осенью) могут принимать участие фенилаланин и цистин с цистеином.

Таким образом, полученные в данной работе сведения о составе, концентрациях, относительном содержании и перераспределении САК по таллому *F. vesiculosus* в различные сезоны года и в течение приливно-отливного цикла позволяют проследить их связь с энергетическим и пластическим обменом в клетках водорослей, лучше понять их роль и функции в метаболизме, в поддержании гомеостаза и участии в формировании быстрых реакций в ответ на изменение факторов внешней среды, а также оценить стратегию адаптивных механизмов водорослей к условиям существования в литоральной зоне.

В практическом плане полученные данные можно использовать при разработке технологии интенсивной аквакультуры водорослей для получения сырья с заданными свойствами.

ВЫВОДЫ

1. У трёх видов фукусовых водорослей Баренцева моря качественный состав САК одинаков, но суммарная концентрация и соотношение отдельных аминокислот различаются: у *F. vesiculosus* и *F. serratus* суммарная концентрация САК в 1,4–1,5 раза выше, чем у *F. distichus*. Для *F. vesiculosus* характерно высокое относительное содержание гидрофильных полярных САК по сравнению с родственными видами, что можно рассматривать как один из приспособительных механизмов к длительному осушению в период отлива, позволяющему водоросли произрастать в верхнем горизонте литорали.

2. Концентрация САК у *F. vesiculosus* имеет суточную динамику, которая определяется приливно-отливным циклом: максимум наблюдается при осушении водорослей в период отлива, минимум – у погружённых в воду водорослей.

3. Разные участки таллома *F. vesiculosus* отличаются по концентрации и соотношению САК, что связано с их функциональными особенностями и влиянием внешних факторов среды. Летом и осенью концентрация САК наибольшая в апикальных участках таллома, а зимой и весной – в средней части таллома. Анализ сезонной динамики концентрации и распределения САК по таллому позволяет выявить 4 фазы развития *F. vesiculosus* в течение года: покой, активация роста, рост, накопление запасных веществ, и определить их временные границы.

4. Температура и солёность оказывают влияние на концентрацию, соотношение и распределение САК по таллому *F. vesiculosus*. В естественных условиях весной температура обуславливает переход водорослей в определённую фазу годового развития, а ответная реакция на изменение солёности зависит от фазы развития водоросли. В фазу активации роста у водорослей, находящихся в распреснённых условиях, концентрация САК ниже, чем в морских, а в фазу роста – выше.

5. Экспериментально показано, что у водорослей, находящихся в фазе роста, понижение солёности воды вызывает увеличение концентрации САК в 2–15 раз в течение первых часов воздействия. Через 24 часа концентрация САК снижается, но остаётся повышенной продолжительное время.

6. Изменение концентрации и соотношения САК свидетельствует об их участии в формировании ответных реакций у *F. vesiculosus* при изменении факторов внешней среды (температуры, солёности и осушению в период приливо-отливного цикла) путём модулирующего воздействия на энергетический и пластический обмен.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреев, В. П. Функциональные особенности фотосинтетического аппарата трёх видов *Fucus* в условиях Белого моря. Влияние обезвоживания / В. П. Андреев, Ю. И. Маслов, Е. Ф. Сороколетова // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 2. – С. 244–250.
2. Аржанова, Н. В. Океанологические исследования в губе Ура Баренцева моря в июле 2015 г / Н. В. Аржанова, А. К. Грузевич, В. Л. Зубаревич, О. В. Котова, Н. И. Торгунова, А. М. Храмцова // Труды ВНИРО. – 2015. – Т. 155. – С. 169-172.
3. Атлас Баренцева моря. Электронное справочное пособие по океанографическим характеристикам Баренцева моря. – 2005. – Режим доступа: http://www.aari.ru/resources/a0013_17/barents/atlas_barents_sea/browse_atlas.htm
4. Барашков, Г. К. Сезонные изменения химического состава у фукусовых водорослей Баренцева моря Кольского полуострова / Г. К. Барашков, А. В. Вахрашина, Ю. Е. Петров // Растительные ресурсы. – 1966. – Т. II, вып. 2. – С. 191-200.
5. Безруков, Ю. Ф. Океанология. Часть I. Физические явления и процессы в океане / Ю. Ф. Безруков. – Симферополь: Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, 2006. – 159 с.
6. Березов, Т. Т. Биологическая химия: Учебник. 3-е изд., перераб. и доп. / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. – М.: Медицина, 1998. – 704 с., ил.
7. Биохимия растений / под ред. к.б.н. Л. А. Красильниковой. – Ростов н/Д: «Феникс»; Харьков: Торсинг, 2004. – 224 с.
8. Блинова, Е. И. Водоросли-макрофиты и травы морей европейской части России / Е. И. Блинова. – М.: ВНИРО. – 2007. – 114 с.
9. Воскобойников, Г. М. Механизмы адаптации, регуляции роста и перспективы использования макрофитов Баренцева моря: автореф. дис. на соиск. уч. степ. док. биол. наук: 25.00.28 / Воскобойников Григорий Михайлович. – Мурманск, 2006. – 45 с.

10. Воскобойников, Г. М. Адаптация и регуляция роста у макрофитов Баренцева моря / Г. М. Воскобойников, М. В. Макаров, С. В. Малавенда, И. В. Рыжик // Вестник Кольского научного центра РАН. Естественные и технические науки. – 2015. – № 2 (21). – С. 40-48.
11. Гапочка, Л. Д. Об адаптации водорослей / Л. Д. Гапочка. – М.: Издательство Московского университета, 1981. – 80 с.
12. Горин, С. Л. Гидрологический режим и загрязнение в бассейне и на акватории губы Печенга (Варангер-фьорд Баренцева моря) по данным многолетних наблюдений гидрометслужбы / С. Л. Горин, В. Н. Леман // Труды ВНИРО. – 2017. – Т. 165. – С. 66-82.
13. ГОСТ 31413-2010. Водоросли, травы морские и продукция из них. Правила приёмки и методы отбора проб. Дата принятия 10.06.2010. Дата введения 01.07.2011. – М.: Стандартинформ, 2011. – 12 с.
14. ГОСТ 33331-2015. Водоросли, травы морские и продукция из них. Методы определения массовой доли воды, золы и посторонних примесей. Дата принятия 06.08.2015. Дата введения 01.01.2017. – М.: Стандартинформ, 2016. – 12 с.
15. Доклады о состоянии и об охране окружающей среды Мурманской области в 2017 году. – Мурманск: Министерство природных ресурсов и экологии Мурманской области, 2018. – 165 с.
16. Захарова, А. М. Определение аминокислот в сухом экстракте мозга коров, пробах мяса телят и кур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / А. М. Захарова, И. Л. Гринштейн, Л. А. Карцова // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2012. – Т. 1., вып. 6. – С. 845-853.
17. Зинова, А. Д. Определитель бурых водорослей северных морей СССР / А. Д. Зинова. – М.;Л.: изд. АН СССР, 1953. – 224 с.
18. Ивантер, Э. В. Введение в количественную биологию: Учебное пособие / Э. В. Ивантер, А. В. Коросов. – Петрозаводск: ПетрГУ, 2003. – 304 с.
19. Ившин, В. А. Особенности сезонной динамики параметров вод в восточном рукаве губы Ура Баренцева моря / В. А. Ившин, А. Л. Карсаков //

Сборник статей Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной 125-летию профессора В.А. Водяницкого «Загрязнение морской среды: экологический мониторинг, биоиндикация, нормирование». – Севастополь: Колорит, 2018. – С. 96-101.

20. Изобретение к патенту № 2233104 С1 Российская Федерация, МПК А 23 L 1/30, 1/337. Способ комплексной переработки бурых водорослей с получением йодсодержащих и полисахаридных продуктов: № 2002133172/13: заявл. 09.12.2002: опубл. 27.07.2004 / Н. М. Аминина, Т. И. Вишневская, О. Н. Гурулева, А. В. Подкорытова; заявитель Федеральное государственное унитарное предприятие Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр. – 12 с.

21. Ильин, Г. В. Гидрологический режим губы Зеленецкая, восточный Мурман / Г. В. Ильин, Д. В. Мойсеев, Д. В. Широколов, А. А. Дерябин, Л. Г. Павлова // Вестник Мурманского государственного технического университета. – 2016. – Т. 19. №. 1-2. – С. 268-277.

22. Кадникова, И. А. Химический состав пальмариевых водорослей (Palmariales, Rhodophyta) побережья Камчатки / И. А. Кадникова, О. Н. Селиванова, Н. С. Щербакова // Известия ТИНРО. – 2012. – Т. 169. – С. 246-254.

23. Казначеев, В. П. Биосистема и адаптация / В. П. Казначеев. – Новосибирск: Редакционно-издательский совет сибирского филиала Академии медицинских наук СССР, 1973. – 75 с.

24. Камнев, А. Н. Анатомическое строение разновозрастных слоевищ бурой водоросли *Sargassum pallidum* (Turn.) C. Ag. / А. Н. Камнев, К. С. Бурдин, М. А. Камнева, Н. А. Родова // Известия АН СССР. – 1988. – №2. – С. 301-305.

25. Камшилов, М. М. Эволюционное значение определённой изменчивости / М. М. Камшилов // Вестник Академии наук СССР. – 1976. – №. 8. – С. 77-85.

26. Карасевич, Ю. Н. Экспериментальная адаптация микроорганизмов / Ю. Н. Карасевич. – М.: Наука, 1975. – 179 с.

27. Клиндух, М. П. Содержание пролина в бурой водоросли *Fucus vesiculosus* L.: природные и экспериментальные данные / М. П. Клиндух // Вестник ЮНЦ РАН. – 2011. – Т. 7, № 4. – С. 61-65.

28. Клиндух, М. П. Сравнение методов извлечения свободных аминокислот из фукусовых водорослей / М. П. Клиндух // Эколого-эволюционные исследования морских организмов и экосистем: Мат. XIV международной научной конф. студентов и аспирантов «Проблемы арктического региона». Том I. Форум молодых учёных, посвящённый 110-летию со дня рождения Ю.И. Полянского (XXXII ежегодная конференция молодых учёных ММБИ). – Мурманск: ММБИ КНЦ РАН, 2014. – С. 76-82.

29. Клиндух, М. П. Исследование свободных аминокислот бурых и красных водорослей Баренцева моря методом ВЭЖХ / М. П. Клиндух // Тезисы докладов международной научной конференции «Арктическое морское природопользование в XXI веке – современный баланс научных традиций и инноваций (к 80-летию ММБИ КНЦ РАН)». – Апатиты: КНЦ РАН, 2015. – С. 107-109.

30. Клиндух, М. П. Сравнительное изучение свободных аминокислот бурой водоросли *Fucus vesiculosus* Linnaeus, 1753 литорали Мурманского берега Баренцева моря / М. П. Клиндух, Е. Д. Облучинская // Биология моря. – 2018. – Т. 44, № 3. – С. 200-206.

31. Клиндух, М. П. Аминокислоты бурой водоросли *Fucus vesiculosus* (Phaeophyceae: Fucales) Баренцева моря в летний период / М. П. Клиндух // Водоросли: проблемы таксономии, экологии и использование в мониторинге: Материалы докладов IV Всероссийской научной конференции с международным участием, 24-28 сентября 2018 г, Санкт-Петербург, Россия. – СПб.: «Реноме», 2018. – С. 222-223.

32. Клиндух, М. П. Динамика содержания свободных аминокислот в бурой водоросли *Fucus vesiculosus* Linnaeus, 1753 Баренцева моря в течение года / М. П. Клиндух // Морской биологический журнал. – 2022. – Т. 7, № 3. – С. 44-59.

33. Клиндух, М. П. Сезонные особенности содержания свободных аминокислот в различных участках таллома бурой водоросли *Fucus vesiculosus* L. Баренцева моря / М. П. Клиндух, И. В. Рыжик, М. Ю. Меньшакова // Наука Юга России. – 2023. – Т. 19, № 1. – С. 59-67. DOI: 10.7868/25000640230107
34. Ключкова, Н. Г. Водоросли камчатского шельфа. Распространение, биология, химический состав / Н. Г. Ключкова, В. А. Березовская. – Владивосток: Дальнаука, 1997. – 155 с.
35. Ковалевская, Р. А. Развитие концептакулов бурой водоросли *Cystoseira crassipes* / Р. А. Ковалевская // Биология моря. – 1987. – № 1. – С. 69-71.
36. Кольский залив: океанография, биология, экосистемы, поллютанты / Коллектив авторов. – Апатиты: Изд-во КНЦ РАН, 1997. – 265 с.
37. Кольский залив: освоение и рациональное природопользование / отв. ред. Г. Г. Матишов; Мурманский морской биологический институт КНЦ РАН. – М.: Наука, 2009. – 381 с.
38. Крупнова, Т. Н. Особенности развития спороносной ткани у ламинарии японской под воздействием изменяющихся условий среды / Т. Н. Крупнова // Изв. ТИНРО. – 2002. – Т. 130, № 1–2. – С. 474–482.
39. Кузнецов, В. В. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция / В. В. Кузнецов, Н. И. Шевякова // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, № 2. – С. 321-336.
40. Кузнецов, Вл. В. Физиология растений: учеб. для вузов / Вл. В. Кузнецов, Г. А. Дмитриева. – М.: Высш. шк., 2005. – 736 с.: ил.
41. Кузнецов, Л. Л. Фитоценозы Баренцева моря. Физиологические и структурные характеристики / Л. Л. Кузнецов, Е. В. Шошина. – Апатиты: Издательство КНЦ РАН, 2003. – 308 с.
42. Лоция Баренцева моря. Часть II. От реки Ворьема до пролива Карские ворота. – М.: Министерство обороны Союза ССР, Главное управление навигации и океанографии, 1983. – 283 с.

43. Лощия Баренцева моря. Часть II. От реки Воръема до пролива Карские ворота и западные берега островов Новая Земля. – СПб.: Главное управление навигации и океанографии Министерства обороны РФ, 2006. – 496 с.
44. Макаров, М. В. Адаптация водорослей Баренцева моря к условиям освещения: автореф. дис. на соиск. учён. степ. докт. биол. наук: 25.00.28 / Макаров Михаил Владимирович. – Мурманск, 2010 – 51 с.
45. Максимова, М. П. Гидрохимический и гидрологический режим прибрежной зоны Белого моря. Марикультура: монография / М. П. Максимова, В. А. Чугайнова. – М.: ИИУ МГОУ, 2014 – 200 с.
46. Малавенда, С. В. Влияние солёности на фукусовые водоросли Баренцева моря: автореф. дис. на соиск. уч. степ. канд. биол. наук: 25.00.28 / Малавенда Светлана Владимировна. – Мурманск, 2007. – 27 с.
47. Малавенда, С. В. Влияние абиотических факторов на структуру популяции бурой водоросли *Fucus vesiculosus* восточного Мурман (Баренцево море) / С. В. Малавенда, Г. М. Воскобойников // Биология моря. – 2008. – Т. 34, № 1. – С. 30-34.
48. Малавенда, С. В. Устойчивость фукоидов Баренцева моря к переменной солёности / С. В. Малавенда // Ботанический журнал. – 2011. – Т. 96, № 3. – С. 342-349.
49. Малавенда, С. В. Изменения структуры литоральных фитоценозов Мурман при антропогенном воздействии / С. В. Малавенда, Д. Г. Комракова, С. С. Малавенда // Вестник МГТУ. – 2013. – Т. 16, №3. – С. 486-492.
50. Малавенда, С. В. Биомасса макрофитобентоса и районы его наибольшей уязвимости от разливов нефти в Кольском заливе / С. В. Малавенда, А. А. Шавыкин, П. С. Ващенко // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2015. – № 12. – С. 5–12.
51. Методика измерений массовой доли аминокислот методом капиллярного электрофореза с использованием системы капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ» (ФР.1.31.2015.19761). – С-Пб: ООО «Люмэкс», 2014. – 49 с.

52. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / отв. ред. академик АН УССР А. В. Топачевский. – Киев: Издательство «Наукова Думка», 1975. – 248 с.

53. Мохова, О. Н. Неорганические соединения азота и фосфора в водах Яндовой губы Белого моря / О. Н. Мохова, Л. В. Парухина, Р. А. Мельник // Национальная (всероссийская) научно-практическая конференция «Природные ресурсы, их современное состояние, охрана, промышленное и техническое использование». – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Камчатский государственный технический университет», 2021. – Т. 1., №. XII. – С. 173-176.

54. Мысливец, В. И. Литораль / В. И. Мысливец // Большая российская энциклопедия. – 2010. – Т. 17. – С. 659.

55. Перлюк, М. Ф. Изменчивость аминокислотного состава водорослей, обитающих в зоне переменной солёности / М. Ф. Перлюк, В. С. Злобина, Т. А. Орлов // Гидробиологический журнал. – 1974. – Т. 10, №. 6. – С. 53.

56. Петров, Ю. Е. Отдел бурые водоросли (Phaeophyta) / Ю. Е. Петров // Жизнь растений. Том 3. – М.: Просвещение, 1977. – С. 144-191.

57. Подкорытова, А. В. Динамика некоторых свободных аминокислот ламинарии японской в процессе роста и образования репродуктивной ткани / А. В. Подкорытова // Исследования по технологии рыбных продуктов. – Владивосток: ТИНРО, 1980. – С. 53–57.

58. Проссер, Л. Сравнительная физиология животных / Л. Проссер, Ф. Браун. – М.: Мир, 1967. – 766 с.

59. Репина, О. И. Фукоиды Белого моря: химический состав и перспективы использования / О. И. Репина // Морские прибрежные экосистемы: водоросли, беспозвоночные и продукты их переработки. Мат. II науч.-практич. конференции. – М.: ВНИРО, 2005. – С. 216-219.

60. Руденко, А. О. Определение важнейших аминокислот в сложных объектах биологического происхождения методом обращённо-фазовой ВЭЖХ с получением фенилтиогидантоинов аминокислот / А. О. Руденко, Л. А. Карцова,

С. И. Снарский // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2010. – Т. 10, Вып. 2. – С. 223-230.

61. Рыжик, И. В. Морфо-функциональные особенности промысловых водорослей из разных биотопов Баренцева моря: дис. на соискание степ. канд. биол. наук: 25.00.28 / Инна Валериевна Рыжик. – Мурманск, 2005. – 176 с.

62. Рыжик, И. В. Фотосинтетическая активность *Fucus vesiculosus* L. и *Fucus distichus* L. Баренцева моря после полярной ночи / И. В. Рыжик // Материалы XXV конференции молодых учёных ММБИ. – Апатиты: Издательство КНЦ РАН., 2007. – С. 177-182.

63. Сапожников, В. В. Гидролого-гидрохимическая характеристика среды обитания водных биоресурсов в губе Печенга / В. В. Сапожников, Н. В. Аржанова, А. К. Грузевич, Н. М. Зозуля, С. И. Столярский, Н. И. Торгунова, А. М. Храмцова // Труды ВНИРО. – 2017. – Т. 165. – С. 83-100.

64. Спектров, К. С. Механизмы, обеспечивающие устойчивость морских и пресноводных водорослей к изменению осмотического давления окружающей среды / К. С. Спектров, Б. П. Строганов // Физиология растений. – 1979. – Т. 26, №. 5. – С. 967-977.

65. Филиппова, Г. Г. Основы биохимии растений: Курс лекций / Г. Г. Филиппова, И. И. Смолич. – Минск: БГУ, 2004. – 136 с.

66. Хлебович, В. В. Некоторые аспекты изучения фенотипических адаптаций / В. В. Хлебович, В. Я. Бергер // Журн. общ. биол. – 1975. – Т. 36, №. 1. – С. 11-25.

67. Хлебович, В. В. Акклимация животных организмов / В. В. Хлебович. – Л.: Наука, 1981. – 135 с.

68. Хочачка, П. Биохимическая адаптация: пер. с англ. / П. Хочачка, Дж. Сомеро. – М.: Мир, 1988. – 568 с., ил.

69. Чернобровкина, Н. П. Аргинин в жизни хвойных растений / Н. П. Чернобровкина, Е. В. Робонен, А. Р. Унжаков, Н. Н. Тютюнник // Сибирский экологический журнал. – 2016. – Т. 23, №. 5. – С. 729-738.
DOI 10.15372/SEJ20160510

70. Чиркова, Т. В. Физиологические основы устойчивости растений: учеб. Пособие / Т. В. Чиркова. – СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2002. – 244 с.
71. Шихалев, А. М. Корреляционный анализ. Непараметрические методы: учебно-методическое пособие / А. М. Шихалев. – Казань: Казан. ун-т, 2015. – 58 с.
72. Шошина, Е. В. Фукусовые водоросли / Е. В. Шошина // Промысловые и перспективные для использования водоросли и беспозвоночные Баренцева и Белого морей. – Апатиты: Изд-во КНЦ РАН, 1998. – С. 174-187.
73. Электронный атлас Баренцева моря. – http://www.aari.ru/resources/a0013_17/barents/atlas_barents_sea/_Atlas_Barenc_Sea_seasons/text/Barenc.htm
74. Якубке, Х. Д. Аминокислоты, пептиды, белки: пер. с нем. / Х. Д. Якубке, Х. Ешкайт. – М.: Мир, 1985. – 456 с., ил.
75. Ahmad, I. Salinity responses of the marine microalga *Brachyomonas submarina* Bohlin / I. Ahmad, J. A. Hellebust // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 1985. – Vol. 88. – P. 45-53.
76. Amico, V. Amino Acids, Sugars and Sterols of some Mediterranean Brown Algae / V. Amico, G. Oriente, M. Piattelli, C. Tringali // Biochemical Systematics and Ecology. – 1976. – Vol. 4. – P. 143-146.
77. Angell, A. R. Variation in amino acid content and its relationship to nitrogen content and growth rate in *Ulva ohnoi* (Chlorophyta) / A. R. Angell, L. Mata, R. de Nys, N. A. Paul // Journal of Phycology. – 2014. – Vol. 50, iss. 1. – P. 216-226. <https://doi.org/10.1111/jpy.12154>
78. Araujo, W. L. Identification of the 2-hydroxyglutarate and isovaleryl-CoA dehydrogenases as alternative electron donors linking lysine catabolism to the electron transport chain of *Arabidopsis mitochondria* / W. L. Araujo, K. Ishizaki, A. Nunes-Nesi, T. R. Larson, T. Tohge, I. Krahmert, S. Witt, T. Obata, N. Schauer, I. A. Graham, C. J. Leaver, A. R. Fernie // Plant Cell. – 2010. – Vol. 22. – P. 1549–1563. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.110.075630>

79. Bäck, S. Effects of salinity on growth of Baltic and Atlantic *Fucus vesiculosus* / S. Bäck, J. C. Collins, G. Russell // British Phycological Journal. – 1992. – Vol. 27, iss. 1. – P. 39-47. DOI: 10.1080/00071619200650061
80. Barnett, N. M. Amino Acid and Protein Metabolism in Bermuda Grass During Water Stress / N. M. Barnett, A. W. Naylor // Plant Physiology. – 1966. – Vol. 41. – P. 1222-1230.
81. Bates, L. S. Rapid Determination of Proline for Water-Stressed Studies / L. S. Bates, S. P. Waldren, I. D. Teare // Plant Soil. – 1973. – Vol. 39. – P. 205-207.
82. Bauer, A. Amino acid metabolism of pea leaves: diurnal changes and amino acid synthesis from ¹⁵N-nitrate / A. Bauer, A. A. Urquhart, K. W. Joy // Plant Physiology. – 1977. – Vol. 59. – P. 915-919. <https://doi.org/10.1104/pp.59.5.915>
83. Beer, S. The recovery of net photosynthesis during rehydration of three *Fucus* species from the Swedish West Coast following exposure to air / S. Beer, L. Kautsky // Botanica Marina. – 1992. – Vol. 35, iss. 6. – P. 487-492.
84. Bird, K. T. Nitrogen allocation and storage patterns in *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyta) / K. T. Bird, C. Habig, T. DeBusk // J. Phycol. – 1982. – Vol. 18. – P. 344-348.
85. Birkemeyer, C. Distribution of natural ingredients suggests a complex network of metabolic transport between source and sink tissues in the brown alga *Fucus vesiculosus* / C. Birkemeyer, N. Osmolovskaya, L. Kuchaeva, E. Tarakhovskaya // Planta. – 2019. – Vol. 249, no. 2. – P. 377-391. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-3009-4>
86. Brown, L. M. Sorbitol and proline as intracellular osmotic solutes in the green alga *Stichococcus bacillaris* / L. M. Brown, J. A. Hellebust // Canadian Journal of Botany. – 1978. – Vol. 56. – P. 676–679. DOI: 10.1139/b78-074
87. Channing, D. M. Amino acids and peptides. Part X. The nitrogenous constituents of some marine algae / D. M. Channing, G. T. Young // Journal of the Chemical Society (London). – 1953. – P. 2481-2491.

88. Chu, T. M. Accumulation of Free Proline at Low Temperatures / T. M. Chu, M. Jusaitis, D. Aspinall, L. G. Paleg // *Physiologia Plantarum*. – 1978. – Vol. 43. – P. 254-260.
89. Close, T. J. Dehydrins: a commonality in the response of plants to dehydration and low temperature / T. J. Close // *Physiologia Plantarum*. – 1997. – Vol. 97, iss. 2. – P. 291-296.
90. Contreras-Porcia, L. Tolerance to oxidative stress induced by desiccation in *Porphyra columbina* (Bangiales, Rhodophyta) / L. Contreras-Porcia, D. Thomas, V. Flores, J. A. Correa // *Journal of Experimental Botany*. – 2011. – Vol. 62, no. 6. – P. 1815-1829.
91. Contreras-Porcia, L. Tolerance pathways to desiccation stress in seaweeds / L. Contreras-Porcia, C. Lopez-Cristoffanini, A. Meynard, M. Kumar // *Systems biology of marine ecosystems* / eds. M. Kumar, P. Ralph. – Springer Cham, 2017. – P. 13-33. https://doi.org/10.1007/978-3-319-62094-7_2
92. Coruzzi, G. Chapter 7. Amino Acids / G. Coruzzi, R. Last, N. Dubareva, N. Amrhein // *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, 2nd Edition / eds. R. B. Buchanan, W. Gruissem, R. L. Jones. – Wiley Press, Blackwell, 2015. – P. 289-336.
93. Cota, G. F. Photoadaptation of high Arctic ice algae / G. F. Cota // *Nature*. – 1985. – Vol. 315. – P. 219-222.
94. Davison, I. R. Environmental effects on algal photosynthesis: temperature / I. R. Davison // *Journal of phycology*. – 1991. – Vol. 27, no. 1. – P. 2-8.
95. Dawczynski, C. Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products / C. Dawczynski, R. Schubert, G. Jahreis // *Food chemistry*. – 2007. – Vol. 103, no. 3. – P. 891-899.
96. Dickson, D. M. J. Osmotic adaptation in *Ulva lactuca* under fluctuating salinity regimes / D. M. J. Dickson, R. G. W. Jones, J. Davenport // *Planta*. – 1982. – Vol. 155. – P. 409-415.

97. Diouris, M. Long-distance transport of C-labelled assimilates in the Fucales: directionality, pathway and velocity / M. Diouris, J. Y. Floc'h // Marine Biology. – 1984. – Vol. 78. – P. 199-204.
98. Diouris, M. Long-distance transport of ^{14}C -labelled assimilates in the Fucales: nature of translocated substances in *Fucus serratus* / M. Diouris // Phycologia. – 1989. – Vol. 28 (4). – P. 504-511.
99. Dittami, S. M. Integrative analysis of metabolite and transcript abundance during the short-term response to saline and oxidative stress in the brown alga *Ectocarpus siliculosus* / S. M. Dittami, A. Gravot, D. Renault, S. Goulitquer, A. Eggert, A. Bouchereau, C. Boyen, T. Tonon // Plant, Cell and Environment. – 2011. – Vol. 34. – P. 629–642. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02268.x>
100. Draper, S. R. Amino acid changes associated with low temperature treatment of *Lolium perenne* / S. R. Draper // Phytochemistry. – 1972. – Vol. 11, iss. 2. – P. 639–641. doi:10.1016/0031-9422(72)80025-6
101. Falkowski, P. G. Acclimation to spectral irradiance in algae / P. G. Falkowski, J. LaRoche // Journal of Phycology. – 1991. – Vol. 27. – P. 8-14.
102. Fattorusso, E. Amino acids from marine algae / E. Fattorusso, M. Piattelli // Marine natural products: Chemical and biological perspectives. Vol. 3 / ed. by P. J. Scheuer. – New York: Academic Press Inc., 1980. – P. 95-140.
103. Flores-Molina, M. R. Desiccation stress in intertidal seaweeds: effects on morphology, antioxidant responses and photosynthetic performance / M. R. Flores-Molina, D. Thomas, C. Lovazzano, A. Nunez, J. Zapata, M. Kumar, J. A. Correa, L. Contreras-Porcia // Aquatic Botany. – 2014. – Vol. 113. – P. 90-99. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquabot.2013.11.004>
104. Flynn, K. J. Carbon-nitrogen relations at whole-cell and free-amino-acid levels during batch growth of *Isochrysis galbana* (Prymnesiophyceae) under conditions of alternating light and dark / K. J. Flynn, K. Davidson, J. W. Leftley // Marine Biology. – 1994. – Vol. 118. – P. 229-237. <https://doi.org/10.1007/BF00349789>

105. Fujii, S. Growth and Osmoregulation of *Chaetoceros muelleri* in Relation to Salinity / S. Fujii, N. Nishimoto, A. Notoya, J. A. Hellebust // Plant and Cell Physiology. – 1995. – Vol. 36. – P. 759–764. doi:10.1093/oxfordjournals.pcp.a078819
106. Fukutoku, Y. Diurnal changes in water potential and free amino acid contents of water-stressed and non-stressed soybean plants / Y. Fukutoku, Y. Yamada // Soil Science and Plant Nutrition. – 1981. – Vol. 27, iss. 2. – P. 195-204. DOI: 10.1080/00380768.1981.10431271
107. Galili, G. Metabolic Engineering of Amino Acids and Storage Proteins in Plants / G. Galili, R. Hofgen // Metabolic Engineering. – 2002. – Vol. 4. – P. 3–11. DOI: 10.1006/mben.2001.0203
108. Galland-Irmouli, A.-V. Nutritional value of proteins from edible seaweed *Palmaria palmata* (Dulse) / A.-V. Galland-Irmouli, J. Fleurence, R. Lamghari, M. Lucon, C. Rouxel, O. Barbaroux, J.-P. Bronowicki, C. Villaume, J.-L. Gueant // The Journal of Nutritional Biochemistry. – 1999. – Vol. 10, iss. 6. – P. 353-359. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(99\)00014-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(99)00014-5)
109. Gerard, V. A. Growth and utilization of internal nitrogen reserves by the giant kelp *Macrocystis pyrifera* in a low-nitrogen environment / V. A. Gerard // Marine Biology. – 1982. – Vol. 66. – P. 27–35. <https://doi.org/10.1007/BF00397251>
110. Gilles, R. Effect of salinity on the free amino acids pool of the red alga *Porphyridium purpureum* (= *P. cruentum*) / R. Gilles, A. Pequeux // Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology. – 1977. – Vol. 57. – P. 183–185. DOI: 10.1016/0300-9629(77)90371-1
111. Gómez, I. Seasonal changes in C, N and major organic compounds and their significance to morpho-functional processes in the endemic Antarctic brown alga *Ascoseira mirabilis* / I. Gómez, C. Wiencke // Polar biology. – 1998. – Vol. 19. – P. 115-124. <https://doi.org/10.1007/s0030000050222>
112. Gómez, I. Morpho-functionality of Carbon Metabolism in Seaweeds / I. Gómez, P. Huovinen // Seaweed Biology. Ecological Studies (Analysis and Synthesis) / eds. C. Wiencke, K. Bischof – Berlin, Heidelberg: Springer, 2012. – Vol. 219. – P. 25-46. https://doi.org/10.1007/978-3-642-28451-9_2

113. Guenther, R. J. Physiological performance of intertidal coralline algae during a simulated tidal cycle / R. J. Guenther, P. T. Martone // *Journal of Phycology*. – 2014. – Vol. 50. – P. 310–321. DOI: 10.1111/jpy.12161
114. Guiry, M. D. *Fucus vesiculosus* Linnaeus 1753 / M. D. Guiry, G. M. Guiry // *AlgaeBase*. World-wide electronic publication. – Galway: National University of Ireland, 16 November 2022. – searched on 08 July 2024. https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=87
115. Gupta, V. Metabolic regulatory oscillations in intertidal green seaweed *Ulva lactuca* against tidal cycles / V. Gupta, H. R. Kushwaha // *Scientific reports*. – 2017. – Vol. 7. – P. 1-9 (16430). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15994-2>
116. Harada, K. Change of amino acid compositions of ‘Nori’, *Porphyra* spp. during storage / K. Harada, Y. Osumi, N. Fukuda, H. Amano, H. Noda // *Nippon Suisan Gakkaishi*. – 1990. – Vol. 56, iss. 4. – P. 607–612. <https://doi.org/10.2331/suisan.56.607>
117. Hardwick-Witman, M. N. Tissue nitrogen and carbon variations in New England estuarine *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis populations (Fucales, Phaeophyta) / M. N. Hardwick-Witman, A. C. Mathieson // *Estuaries*. – 1986. – Vol. 9. – P. 43–48.
118. Harris, J. P. Seasonal acclimatization of thallus proline contents of *Mastocarpus stellatus* and *Chondrus crispus*: intertidal rhodophytes that differ in freezing tolerance / J. P. Harris, B. A. Logan // *Journal of Phycology*. – 2018. – Vol. 54 (3). – P. 419–422. DOI: 10.1111/jpy.12624
119. Heiba, H. I. The amino acid composition of some common marine algae from Qatar (Arabian gulf) / H. I. Heiba, S. A. Al-Nagdy, A. M. Rizk, M. M. Durgham // *Qatar Univ. Sci. J.* – 1993. – Vol. 13, iss. 2. – P. 219 – 225.
120. Hildebrandt, T. M. Amino Acid Catabolism in Plants / T. M. Hildebrandt, A. Nunes Nesi, W. L. Araujo, H.-P. Braun // *Molecular Plant*. – 2015. – Vol. 8. – P. 1563–1579. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molp.2015.09.005>
121. Ievinsh, G. Biological basis of biological diversity: physiological adaptations of plants to heterogeneous habitats along a sea coast / G. Ievinsh // *Acta Universitatis Latviensis*. – 2006. – Vol. 710, Biology. – P. 53–79.

122. Impellizzeri, G. Amino acids and low-molecular-weight carbohydrates of some marine red algae / G. Impellizzeri, S. Mangiafico, G. Oriente, M. Piattelli, S. Sciuto, E. Fattorusso, S. Magno, C. Santacroce, D. Sica // *Phytochemistry*. – 1975. – Vol. 14. – P. 1549-1557.
123. Impellizzeri, G. Amino-acid profiles in red algae / G. Impellizzeri, S. Mangiafico, M. Piattelli, S. Sciuto, E. Fattorusso, C. Santacroce, D. Sica // *Biochemical Systematics and Ecology*. – 1977. – Vol. 5, iss. 2. – P. 77-80. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(77\)90035-7](https://doi.org/10.1016/0305-1978(77)90035-7)
124. Islamova, R. Metabolic Adjustment of High Intertidal Alga *Pelvetia canaliculata* to the Tidal Cycle Includes Oscillations of Soluble Carbohydrates, Phlorotannins, and Citric Acid Content / R. Islamova, N. Yanshin, E. Zamyatkina, E. Gulk, E. Zuy, S. Billig, C. Birkemeyer, E. Tarakhovskaya // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – P. 10626. <https://doi.org/10.3390/ijms241310626>
125. Ito, K. Seaweed: Chemical composition and potential food uses / K. Ito, K. Hori // *Food Reviews International*. – 1989. – Vol. 5(1). – P. 101-144. DOI: 10.1080/87559128909540845
126. Jackson, A. E. The accumulation of proline in *Prasiola crispa* during winter in Antarctica / A. E. Jackson, R. D. Seppelt // *Physiologia Plantarum*. – 1995. – Vol. 94. – P. 25-30.
127. Jones, A. B. Macroalgal responses to nitrogen source and availability: amino acid metabolic profiling as a bioindicator using *Gracilaria edulis* (Rhodophyta) 1 / A. B. Jones, W. C. Dennison, G. R. Stewart // *Journal of Phycology*. – 1996. – Vol. 32, iss. 5. – P. 757-766. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1996.00757.x>
128. Kakinuma, M. Physiological and biochemical responses to thermal and salinity stresses in a sterile mutant of *Ulva pertusa* (Ulvaes, Chlorophyta) / M. Kakinuma, D. A. Coury, Y. Kuno, S. Itoh, Y. Kozawa, E. Inagaki, Y. Yoshiura, H. Amano // *Marine Biology*. – 2006. – Vol. 149. – P. 97-106. DOI: 10.1007/s00227-005-0215-y

129. Kanwisher, J. Freezing and drying in intertidal algae / J. Kanwisher // Biological Bulletin. – 1957. – Vol. 113, no. 2. – P. 275-285.
130. Kaul, S. Free radical scavenging potential of L-proline: evidence from in vitro assays / S. Kaul, S. S. Sharma, I. K. Mehta // Amino acids. – 2008. – Vol. 34 (2). – P. 315-320. DOI: 10.1007/s00726-006-0407-x
131. Kaur, M. Abiotic stress in algae: response, signaling and transgenic approaches / M. Kaur, K. C. Saini, H. Ojah, R. Sahoo, K. Gupta, A. Kumar, F. Bast // Journal of Applied Phycology. – 2022. – Vol. 34. – P. 1843–1869. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02746-7>
132. Kawamitsu, Y. Photosynthesis during desiccation in an intertidal alga and a land plant / Y. Kawamitsu, T. Driscoll, J. S. Boye // Plant Cell Physiol. – 2000. – Vol. 41, no. 3. – P. 344-353.
133. Kerkeb, L. The Role of Free Histidine in Xylem Loading of Nickel in *Alyssum lesbiacum* and *Brassica juncea* / L. Kerkeb, U. Krämer // Plant physiology. – 2003. – Vol. 131, iss. 2. – P. 716-724. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp102.010686>
134. Khaleafa, A. F. Seasonal variations in the growth and amino acid pattern of *Caulerpa prolifera* (Foerskal) Lamouroux / A. F. Khaleafa, A. F. Mohsen, S. H. Shaalan // Hydrobiological Bulletin. – 1982a. – Vol. 16 (2-3). – P. 201 - 206.
135. Khaleafa, A. F. Effect of different light intensities on growth, amino-acid, fat and sugar concentrations in *Caulerpa prolifera* (Foerskal) Lamouroux / A. F. Khaleafa, A. F. Mohsen, S. H. Shaalan // Hydrobiological Bulletin. – 1982b. – Vol. 16, no. 2- 3. – P. 207- 212. <https://doi.org/10.1007/BF02255374>
136. Kim, J. K. Research note: comparison of growth and nitrate uptake by New England Porphyra species from different tidal elevations in relation to desiccation / J. K. Kim, G. P. Kraemer, C. Yarish // Phycological Research. – 2009. – Vol. 57, iss. 2. – P. 152–157. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1835.2009.00533.x>
137. Kirst, G. O. Salinity tolerance of eukaryotic marine algae / G. O. Kirst // Annual review of plant biology. – 1989. – Vol. 41, no 1. – P. 21-53. <https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.pp.41.060190.000321>

138. Klindukh, M. P. Seasonal changes in the mannitol and proline contents of the brown alga *Fucus vesiculosus* L. on the Murman coast of the Barents Sea / M. P. Klindukh, E. D. Obluchinskaya, G. G. Matishov // Doklady Biological Sciences. – 2011. – Vol. 441, no 1. – P. 373-376. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1134/S0012496611060032.pdf>
139. Klindukh, M. Changes in physiological and biochemical parameters of Barents Sea *Fucus vesiculosus* Linnaeus 1753 in response to low salinity / M. Klindukh, I. Ryzhik, M. Makarov // Aquatic Botany. – 2022. – Vol. 176. – 103469. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2021.103469>
140. Klindukh, M. P. Influence of environmental factors on the contents of free amino acids in *Fucus vesiculosus* in the Barents Sea during the day / M. P. Klindukh, I. V. Ryzhik, M. V. Makarov // E3S Web of Conferences. – 2023. – Vol. 390. – 05008. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202339005008>
141. Kovacik, J. Effect of copper and salicylic acid on phenolic metabolites and free amino acids in *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae) / J. Kovacik, B. Klejdus, J. Hedbavny, M. Backor // Plant Science. – 2010. – Vol. 178. – P. 307–311. DOI: 10.1016/j.plantsci.2010.01.009
142. Krämer, U. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel / U. Krämer, J. D. Cotter-Howells, J. M. Charnock, A. J. M. Baker, A. C. J. Smith / Nature. – 1996. – Vol. 379, no. 6566. – P. 635-638. <https://doi.org/10.1038/379635a0>
143. Kranner, I. A Modulating Role for Antioxidants in Desiccation Tolerance / I. Kranner, S. Birtic // Integrative and Comparative Biology. – 2005. – Vol. 45, iss. 5. – P. 734–740. <https://doi.org/10.1093/icb/45.5.734>
144. Krell, A. Regulation of proline metabolism under salt stress in the psychrophilic diatom *Fragilariopsis cylindrus* (Bacillariophyceae)¹ / A. Krell, D. Funck, I. Plettner, U. John, G. Dieckmann // Journal of Phycology. – 2007. – Vol. 43, iss. 4. – P. 753-762. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00366.x>
145. Kumar, M. Biochemical responses of red alga *Gracilaria corticata* (Gracilariales, Rhodophyta) to salinity induced oxidative stress / M. Kumar, P. Kumari,

V. Gupta, C. R. K. Reddy, B. Jha // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. – 2010. – Vol. 391. – P. 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2010.06.001>

146. Kumar, M. Desiccation induced oxidative stress and its biochemical responses in intertidal red alga *Gracilaria corticata* (Gracilariales, Rhodophyta) / M. Kumar, V. Gupta, N. Trivedi, P. Kumari, A. J. Bijoy, C. R. K. Reddy, B. Jha // Environmental and Experimental Botany. – 2011. – Vol. 72, iss. 2. – P. 194-201. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2011.03.007

147. Kumar, M. Salinity and desiccation induced oxidative stress acclimation in seaweeds / M. Kumar, P. Kumari, C. R. K. Reddy, B. Jha // Advances in botanical research. – 2014. – Vol. 71. – P. 91-123. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408062-1.00004-4>

148. Lalegerie, F. The stressful life of red and brown seaweeds on the temperate intertidal zone: Effect of abiotic and biotic parameters on the physiology of macroalgae and content variability of particular metabolites / F. Lalegerie, L. Gager, V. Stiger-Pouvreau, S. Connan // Advances in Botanical Research – Academic Press, 2019. – Vol. 95. – P. 247-287. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2019.11.007>

149. Lam, H. M. Metabolic regulation of the gene encoding glutamine-dependent asparagine synthetase in *Arabidopsis* / H. M. Lam, S. S. Y. Peng, G. M. Coruzzi // Plant Physiology. – 1994. – Vol. 106. – P. 1347–1357.

150. Lam, H. M. Reciprocal regulation of distinct asparagine synthetase genes by light and metabolites in *Arabidopsis thaliana* / H. M. Lam, M. H. Hsieh, G. Coruzzi // Plant Journal. – 1998. – Vol. 16. – P. 345–353.

151. Lee, T. M. Correlation of decreased calcium contents with proline accumulation in the marine green macroalga *Ulva fasciata* exposed to elevated NaCl contents in seawater / T. M. Lee, C. H. Liu // Journal of Experimental Botany. – 1999. – Vol. 50, no. 341. – P. 1855-1862. <https://doi.org/10.1093/jxb/50.341.1855>

152. Lewis, E. J. The Protein, Peptide, and Free Amino-Acid Contents of some Species of Marine Algae from Bombay / E. J. Lewis, E. A. Gonzalves // Annals of Botany. – 1962. – Vol. 26, no. 103. – P. 301-316.

153. Li, R. Proteins immunologically related to dehydrins in fucoid algae / R. Li, S. H. Brawley, T. J. Close // *Journal of Phycology*. – 1998. – Vol. 34, iss. 34. – P. 642-650.
154. Lignell, Å. Nitrogen metabolism in *Gracilaria secundata* Harv / Å. Lignell, M. Pedersén // *Twelfth International Seaweed Symposium*. – Springer, Dordrecht, 1987. – P. 431-441.
155. Liu, M. S. Effects of salinity and osmolarity of the medium on amino acid metabolism in *Cyclotella cryptica* / M. S. Liu, J. A. Hellebust // *Canadian Journal of Botany*. – 1976. – Vol. 54, no 9. – P. 938–948. DOI: 10.1139/b76-098
156. Lobban, C. S. The physiological ecology of seaweeds / C. S. Lobban, P. J. Harrison, M. J. Duncan. – New York (USA): CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS, 1985. – 242 p.
157. López-Cristoffanini, C. Identification of proteins involved in desiccation tolerance in the red seaweed *Pyropia orbicularis* (Rhodophyta, Bangiales) / C. López-Cristoffanini, J. Zapata, F. Gaillard, P. Potin, J. A. Correa, L. Contreras-Porcia // *Proteomics*. – 2015. – Vol. 15. – P. 3954-3968. DOI: 10.1002/pmic.201400625
158. Lüning, K. CO₂ fixation and translocation in benthic marine algae. III. Rates and ecological significance of translocation in *Laminaria hyperborea* and *L. saccharina* / K. Lüning, K. Schmitz, J. Willenbrink // *Marine Biology*. – 1973. – Vol. 23, no. 4. – P. 275-281.
159. Lüning, K. Diurnal and circadian periodicity of mitosis and growth in marine macroalgae. III. The red alga *Porphyra umbilicalis* / K. Lüning, E. Titlyanov, T. Titlyanova // *European Journal of Phycology*. – 1997. – Vol. 32, iss. 2. – P. 167-173. <https://doi.org/10.1080/09670269710001737099>
160. Madgwick, J. C. Free Amino Acids in Australian Marine Algae / J. C. Madgwick, B. J. Ralph // *Botanica Marina*. – 1972. – Vol. XV. – P. 205-209.
161. Maehre, H. K. Characterization of protein, lipid and mineral contents in common Norwegian seaweeds and evaluation of their potential as food and feed / H. K. Maehre, M. K. Malde, K. E. Eilertsen, E. O. Elvevoll // *Journal of the Science of*

Food and Agriculture. – 2014. – Vol. 94, iss. 15. – P. 3281-3290.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.6681>

162. Maehre, H. K. Heat treatment increases the protein bioaccessibility in the red seaweed dulse (*Palmaria palmata*), but not in the brown seaweed winged kelp (*Alaria esculenta*) / H. K. Maehre, G. K. Edvinsen, K.-E. Eilertsen, E. O. Elvevoll // J. Appl. Phycol. – 2016. – Vol. 28. – P. 581–590. DOI 10.1007/s10811-015-0587-4

163. Makarov, M. Influence of ultraviolet radiation on the growth of the dominant macroalgae of the Barents Sea / M. Makarov // Chemosphere-Global Change Science. – 1999. – Vol. 1(4). – P. 461-467.

164. Makarov, M. V. Effects of light and temperature on the Barents Sea macroalgae / M. V. Makarov, G. M. Voskoboynikov // Berichte zur Polar und Meeresforschung. – 2012. – Vol. 640. – P. 101-118.
<http://hdl.handle.net/10013/epic.38666.d001>

165. Makarov, V. N. Diurnal and circadian periodicity of mitosis and growth in marine macroalgae. I. Juvenile sporophytes of Laminariales (Phaeophyta) / V. N. Makarov, E. V. Schoschina, K. Lüning // European Journal of Phycology. – 1995. – Vol. 30, iss. 4. – P. 261-266. <https://doi.org/10.1080/09670269500651031>

166. Mansour, M. M. F. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress / M. M. F. Mansour // Biologia Plantarum. – 2000. – Vol. 43, iss. 4. – P. 491-500. <https://doi.org/10.1023/A:1002873531707>

167. Masclaux-Daubresse, C. Diurnal changes in the expression of glutamate dehydrogenase and nitrate reductase are involved in the C/N balance of tobacco source leaves / C. Masclaux-Daubresse, M. H. Valadier, E. Carrayol, M. Reisdorf-Cren, B. Hirel // Plant, Cell & Environment. – 2002. – Vol. 25, iss. 11. – P. 1451-1462.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00925.x>

168. Matysik, J. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants / J. Matysik, Alia, B. Bhalu, P. Mohanty // Current Science. – 2002. – Vol. 82, no. 5. – P. 525–532.

169. McGlathery, K. J. Changes in intracellular nitrogen pools and feedback controls on nitrogen uptake in *Chaetomorpha linum* (Chlorophyta) 1 / K. J. McGlathery,

M. F. Pedersen, J. Borum // Journal of Phycology. – 1996. – Vol. 32, iss. 3. – P. 393-401. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1996.00393.x>

170. Mohsen, A. F. Effect of Different Light Intensities on Growth, Reproduction, Amino Acid Synthesis, Fat and Sugar Contents in *Ulva fasciata* Delile / A. F. Mohsen, A. H. Nasr, A. M. Metwalli // Hydrobiologia. – 1973. – Vol. 43, iss. 1-2. – P. 125-135.

171. Mohsen, A. F. Amino Acid Pattern and Seasonal Variation in Some Marine Algae from Alexandria / A. F. Mohsen, A. M. Kharboush, A. F. Khaleafa, A. Metwalli, Y. Azab // Botanica Marina. – 1975. – Vol. XVIII. – P. 167-178.

172. Mohsen, A. F. Correlation between free and conjugated amino acids in some marine algae during their vegetative growth and reproductive stages / A. F. Mohsen, A. F. Khaleafa, Y. Azab // Hydrobiol.Bull. – 1979. – Vol. 13, iss. 2. – P. 120-122.

173. Morgan, K. C. Review of Chemical Constituents of the Red Alga *Palmaria palmata* (Dulse) / K. C. Morgan, J. L. C. Wright, F. J. Simpson // Economic Botany. – 1980. – Vol. 34(1). – P. 27-50.

174. Munda, I. Water and electrolyte exchange in the brown algae *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol., *Fucus vesiculosus* L. and *Fucus ceranoides* L / I. Munda // Botanica Marina. – 1964. – Vol. 6, iss. 1-2. – P. 158-188. <https://doi.org/10.1515/botm.1964.6.1-2.158>

175. Munda, I. M. Differences in amino acid composition of estuarine and marine fucoids / I. M. Munda // Aquatic Botany. – 1977. – Vol. 3. – P. 273-280. [https://doi.org/10.1016/0304-3770\(77\)90029-8](https://doi.org/10.1016/0304-3770(77)90029-8)

176. Munda, I. M. Chemical composition and physiological properties of fucoids under conditions of reduced salinity / I. M. Munda, B. P. Kremer // Marine Biology. – 1977. – Vol. 42. – P. 9-15. <https://doi.org/10.1007/BF00392009>

177. Munda, I. M. Salinity-induced changes of nitrogenous constituents in *Fucus vesiculosus* (Phaeophyceae) / I. M. Munda, C. Garrasi // Aquatic Botany. – 1978. – Vol. 4. – P. 347-351.

178. Munns, R. Genes and salt tolerance: bringing them together / R. Munns // *New Phytologist*. – 2005. – Vol. 167. – P. 645–663.
179. Nagahisa, E. Variations in D-Aspartate Content with Season and Part of *Hizikia fusiformis* / E. Nagahisa, N. Kanno, M. Sato, Y. Sato // *Fisheries Science*. – 1994. – Vol. 60, iss. 6. – P. 777-779.
180. Naidu, B. P. Amino acid and glycine-betaine accumulation in cold stressed seedlings / B. P. Naidu, L. G. Paleg, D. Aspinall, A. C. Jennings, G. P. Jones // *Phytochemistry*. – 1991. – Vol. 30. – P. 407–409.
181. Naldi, M. Changes in nitrogen pools in *Ulva fenestrata* (Chlorophyta) and *Gracilaria pacifica* (Rhodophyta) under nitrate and ammonium enrichment / M. Naldi, P. A. Wheeler // *Journal of Phycology*. – 1999. – Vol. 35, iss. 1. – P. 70-77. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1999.3510070.x>
182. Nasr, A. H. An Electro- Chromatographic Investigation of the Amino Acid Pattern of some Marine Algae from Alexandria / A. H. Nasr, I. A. Bekheet, R. K. Ibrahim // *Hydrobiologia*. – 1967. – Vol. 29, iss. 1. – P. 80-92.
183. Niwa, K. Changes of growth characteristics and free amino acid content of cultivated *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales Rhodophyta) blades with the progression of the number of harvests in a nori farm / K. Niwa, H. Furuita, T. Yamamoto // *Journal of applied phycology*. – 2008. – Vol. 20, iss. 5. – P. 687-693. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9273-5>
184. Nygård, C. A. Influence of salinity, temperature, dissolved inorganic carbon and nutrient concentration on the photosynthesis and growth of *Fucus vesiculosus* from the Baltic and Irish Seas / C. A. Nygård, M. J. Dring // *European Journal of Phycology*. – 2008. – Vol. 43, no. 3. – P. 253-262. DOI: 10.1080/09670260802172627
185. Obluchinskaya, E. D. Contents of Alginic Acid and Fucoidan in *Fucus* Algae of the Barents Sea / E. D. Obluchinskaya, G. M. Voskoboinikov, V. A. Galynkin // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2002. – Vol. 38. – P. 186-188. <https://doi.org/10.1023/A:1014374903448>

186. Oliveira, I. C. Carbon and amino acids reciprocally modulate the expression of glutamine synthetase in *Arabidopsis* / I. C. Oliveira, G. Coruzzi // *Plant Physiology*. – 1999. – Vol. 221. – P. 301–309.
187. Park, C. S. Effects of deep seawater medium on growth and amino acid profile of a sterile *Ulva pertusa* Kjellman (Ulvaceae, Chlorophyta) / C. S. Park, K. Y. Park, E. K. Hwang, M. Kakinuma // *Journal of Applied Phycology*. – 2013. – Vol. 25, iss. 3. – P. 781–786. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-9985-7>
188. Parker, B. C. Translocation in macrocystis. III. Composition of sieve tube exudate and identification of the major C14-labeled products¹ / B. C. Parker // *Journal of Phycology*. – 1966. – Vol. 2, no. 1. – P. 38-41.
189. Peer, W. A. Phytoremediation and hyperaccumulator plants / W. A. Peer, I. R. Baxter, E. L. Richards, J. L. Freeman, A. S. Murphy // *Molecular biology of metal homeostasis and detoxification: from microbes to man*. – Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2005. – P. 299-340.
190. Pedersen, M. F. Phosphorus dynamics and limitation of fast- and slow-growing temperate seaweeds in Oslofjord, Norway / M. F. Pedersen, J. Borum, F. L. Fotel // *Marine ecology progress series*. – 2010. – Vol. 399. – P. 103–115.
191. Peinado, I. Chemical composition, antioxidant activity and sensory evaluation of five different species of brown edible seaweeds / I. Peinado, J. Girón, G. Koutsidis, J. M. Ames // *Food Research International*. – 2014. – Vol. 66. – P. 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.035>
192. Potel, F. Assimilation of excess ammonium into amino acids and nitrogen translocation in *Arabidopsis thaliana*—roles of glutamate synthases and carbamoylphosphate synthetase in leaves / F. Potel, M. H. Valadier, S. Ferrario-Méry, O. Grandjean, H. Morin, L. Gaufichon, S. Boutet-Mercey, J. Lothier, S. J. Rothstein, N. Hirose, A. Suzuki // *FEBS Journal*. – 2009. – Vol. 276. – P. 4061–4076.
193. Rani, G. Changes in protein profile and amino acids in *Cladophora vagabunda* (Chlorophyceae) in response to salinity stress / G. Rani // *J. Appl. Phycol.* – 2007. – Vol. 19. – P. 803–807. DOI 10.1007/s10811-007-9211-6

194. Raven, J. A. Long-distance transport in non-vascular plants / J. A. Raven // Plant, Cell & Environment. – 2003. – Vol. 26, iss. 1. – P. 73-85. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2003.00920.x>
195. Reed, R. H. The osmotic responses of *Polysiphonia lanosa* (L.) Tandy from marine and estuarine sites: Evidence for incomplete recovery of turgor / R. H. Reed // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. – 1983. – Vol. 68. – P. 169–193. DOI: 10.1016/0022-0981(83)90158-2
196. Rosell, K.-G. Seasonal variations in total nitrogen, carbon and amino acids in *Macrocystis integrifolia* and *Nereocystis luetkeana* (Phaeophyta) / K.-G. Rosell, L. M. Srivastava // Journal of Phycology. – 1985. – Vol. 21. – P. 304-309.
197. Ryzhik, I. V. Seasonal variations in the metabolic activity of cells of *Fucus vesiculosus* Linnaeus, 1753 (Phaeophyta: Fucales) from the Barents Sea / I. V. Ryzhik // Russian Journal of Marine Biology. – 2016. – Vol. 42. – P. 433-436. <https://doi.org/10.1134/S1063074016050102>
198. Ryzhik, I. V. Photosynthetic Capacity of *Fucus vesiculosus* Linnaeus, 1753 (Phaeophyta: Fucales) in the Barents Sea during the Tidal Cycle / I. V. Ryzhik, A. A. Kosobryukhov, E. F. Markovskaya, M. V. Makarov // Biology Bulletin. – 2021. – Vol. 48, no 1. – P. 48-56. <https://doi.org/10.1134/S1062359020060114>
199. Saradhi, P. P. Proline accumulates in plants exposed to UV radiation and protects them against UV-induced peroxidation / P. P. Saradhi, S. AliaArora, K. V. S. K. Prasad // Biochemical and biophysical research communications. – 1995. – Vol. 209 (1). – P. 1-5. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.1461>
200. Schmid, M. Acclimation potential and biochemical response of four temperate macroalgae to light and future seasonal temperature scenarios / M. Schmid, F. Guiheneuf, U. Nitschke, D. B. Stengel // Algal Research. – 2021. – Vol. 54. – P. 102190. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102190>
201. Schmitz, K. CO₂-fixierung und stofftransport in benthischen marinen algen. II. Zum ferntransport ¹⁴C-markierter assimilate bei *Laminaria hyperborea* und *Laminaria saccharina* / K. Schmitz, K. Lüning, J. Willenbrink // Zeitschrift für

Pflanzenphysiologie. – 1972. – Vol. 67, iss. 5. – P. 418-429.
[https://doi.org/10.1016/S0044-328X\(72\)80042-4](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(72)80042-4)

202. Schmitz, K. On the fine structure of sieve tubes and the physiology of assimilate transport in *Alaria marginata* / K. Schmitz, L. M. Srivastava // Canadian Journal of Botany. – 1975. – Vol. 53(9). – P. 861-876. <https://doi.org/10.1139/b75-104>

203. Schmitz, K. A Survey of Translocation in Laminariales (Phaeophyceae) / K. Schmitz, C. S. Lobban // Marine Biology. – 1976. – Vol. 36. – P. 207-216.

204. Schmitz, K. Long distance transport in *Macrocystis integrifolia* I. Translocation of ^{14}C -labelled assimilates / K. Schmitz, L. M. Srivastava // Plant Physiology. – 1979. – Vol. 63, iss. 6. – P. 995–1022.

205. Schobert, B. The influence of water stress on the metabolism of diatoms I. Osmotic resistance and proline accumulation in *Cyclotella meneghiniana* / B. Schobert // Zeitschrift für Pflanzenphysiologie. – 1974. – Vol. 74 (2). – P. 106–120. DOI: 10.1016/s0044-328x(74)80164-9

206. Schobert, B. The Influence of Water Stress on the Metabolism of Diatoms: II. Proline Accumulation Under Different Conditions of Stress and Light / B. Schobert // Zeitschrift für Pflanzenphysiologie. – 1977. – Vol. 85, iss 5. – P. 451-461. DOI: 10.1016/s0044-328x(77)80303-6

207. Schonbeck, M. The effects of brief periodic submergence on intertidal furoid algae / M. Schonbeck, T. A. Norton // Estuarine and Coastal Marine Science. – 1979. – Vol. 8. – P. 205–211. DOI: 10.1016/0302-3524(79)90091-4

208. Sharma, S. S. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress / S. S. Sharma, K. J. Dietz // Journal of experimental botany. – 2006. – Vol. 57, no. 4. – P. 711–726. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj073>

209. Sharma, V. K. Adaptive Significance of Circadian Clocks / V. K. Sharma // Chronobiology International. – 2003. – Vol. 20, iss. 6. – P. 901-919. DOI: 10.1081/CBI-120026099

210. Stewart, G. R. Accumulation of Amino Acids and Related Compounds in Relation to Environmental Stress / G. R. Stewart, F. Larher // Amino Acids and

Derivatives. Vol. 5. / ed. by B. J. Mifflin. – Academic Press, 1980. – P. 609–635.
DOI: 10.1016/b978-0-12-675405-6.50023-1

211. Surget, G. Seasonal phenology and metabolomics of the introduced red macroalga *Gracilaria vermiculophylla*, monitored in the Bay of Brest (France) / G. Surget, K. Le Lann, G. Delebecq, N. Kervarec, A. Donval, M.-A. Poullaouec, I. Bihannic, N. Poupart, V. Stiger-Pouvreau // J. Appl. Phycol. – 2017. – Vol. 29. – P. 2651–2666. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1060-3>

212. Szabados, L. Proline: a multifunctional amino acid / L. Szabados, A. Savoure // Trends in Plant Science. – 2009. – Vol. 15, no. 2. – P. 89-97. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009>

213. Tabakaeva, O. V. Amino acids from potentially commercial Far-east brown algae *Costaria costata* and *Undaria pinnatifida* / O. V. Tabakaeva, A. V. Tabakaev // Chemistry of Natural Compounds. – 2016. – Vol. 52, no. 2. – P. 376-378. DOI: 10.1007/s10600-016-1651-2

214. Titlyanov, E. A. Diurnal and circadian periodicity of mitosis and growth in marine macroalgae. II. The green alga *Ulva pseudocurvata* / E. A. Titlyanov, T. V. Titlyanova, K. Lüning // European Journal of Phycology. – 1996. – Vol. 31, iss. 2. – P. 181-188. DOI: 10.1080/09670269600651361

215. Tropin, I. V. The photosynthetic apparatus of the Barents sea Fucales (Phaeophyta) after polar night / I. V. Tropin, M. V. Makarov // International journal on algae. – 2004. – Vol. 6, no. 4. – P. 341-354. DOI: 10.1615/InterJAlgae.v6.i4.40

216. Trovato, M. Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development / M. Trovato, R. Mattioli, P. Costantino // Rendiconti Lincei. – 2008. – Vol. 19. – P. 325-346. DOI: 10.1007/s12210-008-0022-8

217. Vieira, E. F. Seaweeds from the Portuguese coast as a source of proteinaceous material: Total and free amino acid composition profile / E. F. Vieira, C. Soares, S. Machado, M. Correia, M. J. Ramalhosa, M. T. Oliva-teles, A. P. Carvalho, V. F. Domingues, F. Antunes, T. A. C. Oliveira, S. Morais, C. Delerue-Matos // Food Chemistry. – 2018. – Vol. 269. – P. 264-275. doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.145.

218. Waditee, R. Metabolic engineering for betaine accumulation in microbes and plants / R. Waditee, N. H. Bhuiyan, E. Hirata, T. Hibino, Y. Tanaka, M. Shikata, T. Takabe // The Journal of Biological Chemistry. – 2007. – Vol. 282, no. 47. – P. 34185–34193.
219. Wang, W. Investigating the mechanisms underlying the hyposaline tolerance of intertidal seaweed, *Pyropia haitanensis* / W. Wang, T. Chen, Y. Xu, K. Xu, D. Ji, C. Chen, C. Xie // Algal Research. – 2020. – Vol. 47. – P. 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101886>
220. Wang, Q. Effects of circadian rhythms of fluctuating temperature on growth and biochemical composition of *Ulva pertusa* / Q. Wang, S. Dong, X. Tian, F. Wang // Hydrobiologia. – 2007. – Vol. 586. – P. 313-319. DOI: 10.1007/s10750-007-0700-z
221. Wegmann, K. Osmoregulation in eukaryotic algae / K. Wegmann // FEMS microbiology Reviews. – 1986. – Vol. 2, iss. 1-2. – P. 37-43. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1986.tb01840.x>
222. Wheeler, P. A. Nitrogen supply, tissue composition and frond growth rates for *Macrocystis pyrifera* off the coast of southern California / P. A. Wheeler, W. J. North // Marine Biology. – 1981. – Vol. 64. – P. 59-69.
223. Wiencke, C. Life strategy, ecophysiology and ecology of seaweeds in polar waters / C. Wiencke, M. N. Clayton, I. Gomez, K. Iken, U. H. Luder, C. D. Amsler, U. Karsten, D. Hanelt, K. Bischof, K. Dunton // Rev Environ Sci Biotechnol. – 2007. – Vol. 6. – P. 95-126. DOI: 10.1007/s11157-006-9106-z
224. Wierzbicka, M. H. Comparison of the toxicity and distribution of cadmium and lead in plant cells / M. H. Wierzbicka, E. Przedpelska, R. Ruzik, L. Ouerdane, K. Polec-Pawlak, M. Jarosz, J. Szpunar, A. Szakiel // Protoplasma. – 2007. – Vol. 231. – P. 99-111. DOI: 10.1007/s00709-006-0227-6
225. Willenbrink, J. Frond development and CO₂-fixation in *Laminaria hyperborea* / J. Willenbrink, M. Rangoni-Kübbeler, B. Tersky // Planta. – 1975. – Vol. 125. – P. 161-170. <https://doi.org/10.1007/BF00388702>

226. Wycisk, K. Enhancing the first enzymatic step in the histidine biosynthesis pathway increases the free histidine pool and nickel tolerance in *Arabidopsis thaliana* / K. Wycisk, E. J. Kim, J. I. Schroeder, U. Krämer // FEBS Letters. – 2004. – Vol. 578, iss. 1-2. – P. 128-134. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.10.086>

227. Xu, D. Responses of photosynthesis and nitrogen assimilation in the green-tide macroalga *Ulva prolifera* to desiccation / D. Xu, X. Zhang, Y. Wang, X. Fan, Y. Miao, N. Ye, Z. Zhuang // Marine biology. – 2016. – Vol. 163. – P. 1-8. <https://doi.org/10.1007/s00227-015-2806-6>

228. Young, E. B. Seasonal variations in nitrate reductase activity and internal N pools in intertidal brown algae are correlated with ambient nitrate concentrations / E. B. Young, M. J. Dring, G. Savidge, D. A. Birkett, J. A. Berges // Plant, cell & environment. – 2007. – Vol. 30, iss. 6. – P. 764-774. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01666.x>

229. Zhou, S. Alteration of Plant Primary Metabolism in Response to Insect Herbivory / S. Zhou, Y.-R. Lou, V. Tzin, G. Jander // Plant Physiology. – 2015. – Vol. 169. P. 1488-1498. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01405>

ПРИЛОЖЕНИЕ А. Дополнительные данные в таблицах

Таблица А.1 – Относительное содержание САК в средней части таллома *F. vesiculosus* в разные месяцы, % от суммы САК*

Аминокислота	янв.16	фев.16	мар.16	апр.16	май.16	июн.16	июл.16	авг.16	сен.16	окт.16	ноя.16	дек.16
Аланин (Ала)	17,2	11,7	7,6	8,2	4,3	4,4	7,5	5,1	6,7	8,6	7,6	12,2
Аргинин	0,8	0,6	0,5	0,3	0,5	0,5	0,4	0,9	2,3	0,9	1,2	1,0
Аспарагиновая кислота (Асп)	22,5	14,2	8,4	8,3	12,5	17,4	12,2	22,0	19,4	9,5	15,5	10,8
Валин	1,0	0,6	0,4	0,8	0,4	0,5	0,5	0,6	0,8	0,9	0,7	0,7
Гидроксипролин	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,03	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
Гистидин	1,7	1,3	0,8	0,4	0,8	0,9	0,7	1,3	1,6	0,3	1,6	1,4
Глицин	0,9	0,6	0,2	0,9	0,3	0,4	0,6	0,5	0,7	0,9	0,6	0,7
Глутаминовая кислота (Глу)	33,9	53,8	67,0	45,2	70,6	69,5	66,2	55,7	38,4	52,7	47,5	53,1
Изолейцин	0,5	0,2	0,1	0,3	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3
Лейцин	0,4	0,2	0,1	0,5	0,1	0,1	0,2	0,3	0,2	0,6	0,2	0,4
Лизин	0,7	0,3	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,4	0,2	0,6	0,2	0,3
Метионин	0,1	0,1	0,02	0,1	0,03	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Пролин (Про)	9,3	8,7	13,0	17,0	7,4	3,6	6,6	8,5	24,1	13,6	19,5	10,0
Серин	2,6	1,3	0,7	1,2	0,7	0,7	0,9	1,0	1,7	1,6	1,8	1,7
Треонин	1,1	0,5	0,3	1,1	0,3	0,4	0,7	0,7	1,1	1,3	1,1	0,8
Тирозин	0,8	0,4	0,1	1,4	0,1	0,1	0,4	0,4	0,2	1,0	0,2	0,5
Триптофан	0,7	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	0,5	0,4	0,4	0,4
Фенилаланин	4,1	3,7	0,3	8,2	0,5	0,2	1,7	0,8	0,6	4,3	0,4	3,7
Цистин+цистеин	1,6	1,5	0,5	5,9	1,1	0,8	0,8	0,9	1,1	2,0	0,9	1,7
Гидрофильные полярные аминокислоты	60,3	70,5	76,7	55,7	84,6	88,6	80,0	80,7	62,1	65,0	66,2	67,2

Примечания

- 1) * – данные представлены в виде процентного соотношения медиан концентраций отдельных аминокислот к медианам суммарной концентрации САК у водорослей;
- 2) жирным шрифтом выделены значения выше 2,0 %

Таблица А.2 – Концентрация САК у *F. vesiculosus* в разные сезоны*

Аминокислота	Концентрация за сезон**, мг·г ⁻¹ сухой массы			
	зима	весна	лето	осень
Аланин	0,409 ^a	0,457 ^a	0,361	0,247
Аргинин	0,023	0,032	0,040 ^a	0,046 ^a
Аспарагиновая кислота	0,471	0,730	1,106 ^a	0,467
Валин	0,023	0,033 ^a	0,032 ^a	0,026
Гидроксипролин	0,003	0,007 ^a	0,005	0,004
Гистидин	0,044	0,052	0,059	0,036
Глицин	0,021	0,028 ^a	0,030 ^a	0,024
Глутаминовая кислота	1,531	4,688 ^a	4,278 ^a	1,499
Изолейцин	0,009	0,010	0,012	0,011
Лейцин	0,010	0,011	0,012	0,011
Лизин	0,012	0,008	0,015 ^a	0,011
Метионин	0,002	0,002	0,004 ^a	0,002
Пролин	0,289	0,820 ^a	0,371	0,604
Серин	0,053	0,055	0,057	0,054
Треонин	0,023	0,030	0,038 ^a	0,038 ^a
Тирозин	0,017	0,022	0,016	0,016
Триптофан	0,014	0,009	0,013	0,013
Фенилаланин	0,119 ^a	0,124 ^a	0,053	0,060
Цистин+цистеин	0,048	0,121	0,054	0,044
Гидрофильные полярные аминокислоты	2,099	5,532 ^a	5,514 ^a	2,074
Сумма САК	3,123	7,241 ^a	6,556 ^a	3,212

Примечания

- 1) * – данные представлены в виде медианы;
- 2) ** – сезоны года выделялись в соответствии с календарными;
- 3) ^a – значимо более высокая концентрация САК в течение года

Таблица А.3 – Значения коэффициентов ранговой корреляции Спирмена между концентрацией САК в средней части таллома *F. vesiculosus* и условиями среды

Аминокислота	ρ (с температурой воздуха)	ρ (с солёностью воды)
Аргинин	0,58	- 0,55
Аспарагиновая кислота	0,55	- 0,69
Валин	0,60	- 0,56
Гидроксипролин	0,42	- 0,61
Глицин	0,60	- 0,48
Глутаминовая кислота	0,54	- 0,73
Изолейцин	0,51	- 0,29
Метионин	0,54	- 0,43
Гидрофильные полярные аминокислоты	0,54	- 0,66
Сумма САК	0,55	- 0,68

Примечание – жирным шрифтом выделены значимые коэффициенты, указывающие на заметную и высокую связь между переменными

Таблица А.4 – Относительное содержание САК в различных частях таллома *F. vesiculosus* в разные сезоны года, % от суммы САК*

Аминокислота	Весна (апрель)				Лето (июль)				Осень (октябрь)			Зима (декабрь)			
	рецептакулы	апексы	средняя часть таллома	стволики	рецептакулы	апексы	средняя часть таллома	стволики	апексы	средняя часть таллома	стволики	рецептакулы	апексы	средняя часть таллома	стволики
Аланин	12,7	11,4	8,3	7,1	6,7	7,0	7,5	6,4	11,7	9,7	2,0	17,7	28,5	12,3	2,3
Аргинин	1,8	1,6	0,3	1,0	0,4	0,4	0,4	0,5	3,9	4,4	5,6	5,6	2,2	1,0	7,3
Аспарагиновая кислота	12,6	19,8	8,4	4,6	14,9	19,3	12,2	14,6	6,4	10,5	8,9	9,3	13,9	10,9	5,6
Валин	1,7	1,4	0,8	0,8	1,0	0,4	0,5	0,7	1,8	1,0	0,9	1,1	2,0	0,8	2,1
Гистидин	1,0	0,8	0,4	1,2	1,1	0,5	0,7	1,4	0,1	0,2	0,0	3,2	0,9	1,4	1,1
Глицин	1,4	1,7	0,9	0,7	0,6	0,5	0,6	0,9	3,0	1,4	1,9	3,0	1,2	0,7	1,8
Глутаминовая кислота	19,8	26,1	45,6	51,6	64,7	66,0	66,3	54,5	23,5	33,2	17,2	29,6	33,8	53,5	3,8
Изолейцин+Лейцин	1,9	1,0	0,8	3,0	0,5	0,3	0,4	0,6	4,6	4,9	2,3	1,8	1,3	0,8	1,7
Лизин	0,2	0,2	0,2	1,6	0,3	0,2	0,2	0,3	0,5	0,6	0,6	0,6	0,5	0,3	0,8
Метионин	0,4	0,2	0,1	0,4	0,1	0,0	0,1	0,1	0,3	0,0	0,7	3,6	1,2	0,1	1,1
Пролин	4,8	4,3	17,1	12,3	2,6	0,6	6,6	10,4	14,4	17,4	36,2	8,0	3,7	10,1	58,1
Серин	2,0	2,1	1,2	1,7	2,1	0,8	1,0	1,6	7,1	1,9	2,6	5,2	3,6	1,6	1,9
Треонин	2,3	1,7	1,1	2,9	1,8	0,8	0,7	1,0	2,6	1,9	3,2	4,5	2,4	0,8	5,7
Тирозин	3,5	1,2	1,4	0,4	0,4	0,2	0,4	0,6	5,3	3,5	4,6	2,4	1,7	0,5	2,5
Фенилаланин	11,3	7,9	7,5	9,2	1,8	2,1	1,7	3,2	13,8	9,0	11,3	3,5	1,6	3,5	4,2
Цистин+Цистеин	22,9	18,7	5,9	1,5	1,0	0,7	0,8	3,2	0,9	0,2	2,1	0,9	1,7	1,7	-

Примечания

- 1) * – данные представлены в виде процентного соотношения медиан концентраций отдельных аминокислот к медианам суммарной концентрации САК у водорослей;
- 2) – жирным шрифтом отмечены значения более 5,0 %

Таблица А.5 – Значения коэффициентов ранговой корреляции Спирмена между концентрацией САК в разных участках таллома *F. vesiculosus* и температурой воздуха в апреле 2014 года

Аминокислота	Апексы	Средняя часть таллома
Аланин	0,53	0,00
Аргинин	0,74	0,43
Аспарагиновая кислота	0,04	- 0,73
Валин	0,57	0,03
Гистидин	0,58	0,09
Глицин	0,62	- 0,02
Глутаминовая кислота	0,79	- 0,70
Изолейцин	- 0,03	- 0,71
Лейцин	- 0,05	- 0,50
Лизин	0,76	- 0,79
Метионин	0,59	0,17
Пролин	- 0,30	- 0,17
Серин	0,63	0,15
Треонин	0,52	- 0,32
Тирозин	0,57	- 0,17
Триптофан	- 0,05	- 0,64
Фенилаланин	0,71	- 0,47
Цистин + цистеин	- 0,03	0,36
Гидроксипролин	0,43	- 0,39
Сумма САК	0,70	- 0,75

Примечание – жирным шрифтом выделены значимые коэффициенты, указывающие на заметную и высокую связь между переменными

Таблица А.6 – Значения коэффициентов ранговой корреляции Спирмена между концентрацией САК в различных участках таллома *F. vesiculosus* и солёностью морской воды в апреле 2014 года

Аминокислота	Водоросли в фазе роста		Водоросли в фазе активации роста	
	апексы	средняя часть таллома	апексы	средняя часть таллома
Аланин	- 0,97	- 0,67	0,88	0,94
Аргинин	- 0,49	0,87	0,61	0,57
Аспарагиновая кислота	0,38	- 0,78	- 0,71	- 0,94
Валин	- 0,93	- 0,79	0,94	0,94
Гистидин	- 0,82	- 0,90	0,84	0,67
Глицин	- 0,89	- 0,72	нет влияния	0,81
Глутаминовая кислота	0,29	- 0,82	нет влияния	- 0,40
Изолейцин	- 0,84	- 0,92	0,00	0,61
Лейцин	- 0,84	- 0,75	- 0,40	0,81
Лизин	- 0,39	- 0,92	нет влияния	нет влияния
Метионин	- 0,81	- 0,93	0,74	0,88
Пролин	нет влияния	- 0,39	- 0,54	- 0,54
Серин	- 0,81	- 0,72	0,84	0,94
Треонин	- 0,97	- 0,97	0,74	0,94
Тирозин	- 0,87	- 0,85	0,94	0,91
Триптофан	- 0,74	- 0,78	нет влияния	нет влияния
Фенилаланин	- 0,49	- 0,46	0,94	- 0,54
Цистин + цистеин	- 0,49	0,32	0,54	0,94
Гидроксипролин	- 0,56	0,34	0,54	0,74
Сумма САК	нет влияния	- 0,97	0,13	- 0,13

Примечание – жирным шрифтом выделены значимые коэффициенты, указывающие на заметную, высокую и весьма высокую связь между переменными

Таблица А.7 – Значения коэффициентов ранговой корреляции Спирмена между концентрацией САК у *F. vesiculosus* и солёностью воды в эксперименте

Аминокислота	Время воздействия				
	3 часа	12 часов	24 часа	7 суток	14 суток
Аланин	- 0,62	- 0,93	- 0,95	- 0,95	- 0,95
Аргинин	- 0,47	- 0,47	- 0,95	- 0,68	нет влияния
Аспарагиновая кислота	- 0,93	- 0,95	- 0,95	- 0,95	- 0,95
Валин	- 0,93	- 0,65	- 0,95	- 0,95	- 0,83
Гистидин	- 0,62	- 0,93	- 0,74	- 0,95	- 0,95
Глицин	- 0,16	- 0,10	- 0,95	- 0,86	- 0,92
Глутаминовая кислота	- 0,10	- 0,95	- 0,95	- 0,95	- 0,95
Изолейцин+лейцин	- 0,93	- 0,65	- 0,95	- 0,95	- 0,95
Лизин	- 0,47	- 0,10	- 0,47	- 0,95	- 0,89
Метионин	нет влияния	- 0,94	- 0,95	0,12	0,24
Пролин	- 0,93	- 0,93	- 0,71	- 0,35	- 0,95
Серин	- 0,10	- 0,71	- 0,95	- 0,95	- 0,71
Тирозин	- 0,83	- 0,93	- 0,95	- 0,95	- 0,95
Треонин	- 0,56	- 0,93	- 0,95	- 0,95	- 0,95
Фенилаланин	- 0,71	- 0,93	- 0,95	- 0,71	- 0,77
Гидрофильные полярные аминокислоты	нет влияния	- 0,83	- 0,95	- 0,95	- 0,83
Сумма САК	- 0,62	- 0,93	- 0,95	- 0,95	- 0,95

Примечание – жирным шрифтом выделены значимые коэффициенты, указывающие на заметную, высокую и весьма высокую связь между переменными