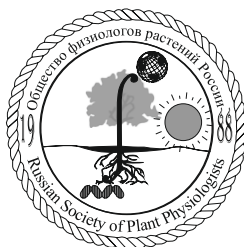


**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ  
СИБИРСКИЙ ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ  
ОБЩЕСТВО ФИЗИОЛОГОВ РАСТЕНИЙ РОССИИ  
ВАВИЛОВСКОЕ ОБЩЕСТВО ГЕНЕТИКОВ И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ**



**Факторы устойчивости растений в  
экстремальных природных условиях и  
техногенной среде**

**Материалы Всероссийской научной конференции  
Иркутск 10-13 июня 2013 г.**

**Иркутск-2013**

УДК 581.5:581.1

ББК 28.58

Ф 18

**Факторы устойчивости растений в экстремальных природных условиях и техногенной среде** / Материалы Всероссийской научной конференции (г. Иркутск, 10-13 июня 2013 г.). – Иркутск: СИФИБР СО РАН, 2013. – 504 с.

В сборнике материалов опубликованы доклады, в которых обсуждается широкий круг теоретических и практических вопросов, связанных с устойчивостью растительных организмов, сообществ, экосистем в экстремальных природных условиях и при воздействии техногенных факторов. В представленных материалах излагаются результаты исследования физиолого-биохимических защитных реакций растительного организма в условиях стресса; структурно-функциональных изменений растительных сообществ под влиянием негативных факторов разного генезиса; индикационных показателей, отражающих уровень устойчивости лесных экосистем, подвергающихся антропогенной нагрузке; а также рассматривается ряд методических подходов для тестирования резистентности растительных организмов и фитоценозов.

Материалы опубликованы в авторской редакции.

Редакционная коллегия: д.б.н. В.К. Войников, д.б.н. Т.А. Михайлова, д.б.н. Л.Е. Макарова, к.б.н. И.А. Антонов, к.б.н. В.А. Осколков, к.б.н. С.И. Шаманова.

Конференция проведена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 13-04-06026г.

Утверждено к печати Ученым советом Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН.

ISBN 978-5-91344-512-4

© Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, 2013

## ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

### РЕАКЦИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ НА НЕБЛАГОПРИЯТНЫЕ ТЕМПЕРАТУРНЫЕ УСЛОВИЯ

Г.Б. Боровский

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, borovskii@sifibr.irk.ru

Изменение температуры затрагивает все стороны жизнедеятельности клетки растения, в связи с чем возникает комплексный ответ, во многом сходный с реакцией клетки на иные неблагоприятные факторы среды. Механизмы, лежащие в основе ответа растительной клетки на изменение температуры и приводящие к развитию толерантности или, напротив, к гибели клетки, интенсивно изучаются в физиологии растений, клеточной и молекулярной биологии, однако, по-прежнему далеки от полного понимания.

Реакция начинается с детекции клеткой температурного сигнала. Основным фактором, вероятно, является изменение в физическом состоянии мембраны [Horváth et al., 2012], однако, важный вклад вносят изменения в конформации различных белков, поведении цитоскелета и активности ферментов [Ruelland & Zachowski, 2010]. Это приводит, в свою очередь, к изменениям в сигнальных каскадах, росту проницаемости мембран для ионов  $Ca^{2+}$  и дальнейшей мультипликации сигнала. Сформированный сигнал вызывает активацию факторов транскрипции, которые связываются с промоторными областями генов белков, принимающих участие в ответе на изменение температуры, и регуляторных коротких РНК (sRNA), о чем хотелось бы сказать несколько подробнее.

В течение последнего десятилетия установлено, что короткие РНК играют ключевую роль в регуляции активности значительной доли транскриптома растений при стрессе. Список воздействий, запускающих регуляторный ответ организма через sRNA, включает в себя реакцию на патогены, освещение, водный стресс, минеральное питание, солевой стресс, гипоксию, механический стресс и изменения температуры. Примечательно, что активность системы образования sRNA также контролируется через sRNA. Таким образом, в растении функционирует регуляторная сеть стресс-чувствительных sRNA, перестраивающая метаболизм клетки при неблагоприятном воздействии (Khraiwesh et al., 2012).

Белки, синтез которых индуцируется или увеличивается при изменении температуры включают в себя белки специфического и неспецифического ответа. Неспецифические белки это, прежде всего, белки, принимающие участие в реакции на окислительный стресс, регуляторные белки, участвующие в торможении роста и метаболизма, в активации репаративных систем. Специфические для низкой температуры белки – это дегидрины и другие белки семейства LEA (late embryogenesis abundant), антифризы и нуклеаторы льдообразования, а также десатуразы. Следует отметить, что при низкотемпературном воздействии не наблюдается такого консервативного ответа, как при гипертермии, растения проявляют большую вариабельность и специфичность в реакции. Белками, характерными для гипертермии в первую очередь считают HSP (heat shock proteins), хотя у многих растений их синтез увеличивается и при гипотермии. Это связано с тем, что шапероновые функции этих белков необходимы при разных видах стресса, но более всего при повышенной температуре.

Изменение температуры вызывает в растительной клетке также резкое увеличение генерации активных форм кислорода (АФК), с одной стороны, это служит выпол-

нению сигнальных функций. С другой – при сильном и длительном повышении уровня АФК происходят повреждения липидных структур и макромолекул (ДНК, РНК, белки) и клетка нуждается в антиоксидантной защите. Перепрограммирование уровня экспрессирующихся белков-ферментов антиоксидантной системы (аскорбатредуктазы, глутатионредуктазы, супероксиддисмутаза, каталаза и многих других), а также белков регуляторной системы является неотъемлемой частью реакции растительной клетки на неблагоприятную температуру [Bilgin, 2010].

Изменения в пластичности мембран происходят достаточно быстро, так как они очень важны для адаптации клеточного метаболизма. Соответственно, это требует изменения в активности и биосинтезе ферментов, регулирующих степень насыщенности липидов мембран. Наиболее изучены такие изменения при низкой температуре, в частности хорошо известно, что экспрессия белков десатураз при низкотемпературном воздействии резко увеличивается [Badea & Basu, 2009]. При высокой температуре происходит обратное событие - увеличение количества насыщенных липидов (остатков жирных кислот) мембран [Grover et al., 2013], хотя белкам, регуливающим это, в целом, уделяют меньше внимания среди других факторов устойчивости к гипертермии.

При стрессе идет также индукция ферментов биосинтетического пути полиаминов, а растения с суперэкспрессией этих генов проявляют повышенную устойчивость ко многим стрессам. Несмотря на то, что у стрессированных растений содержание полиаминов может достигать 1.5% сухой массы, их молекулярные функции недостаточно изучены. Известно, что кроме непосредственного воздействия на стабильность клеточных мембран и уменьшения действия окислительного стресса, эти соединения оказывают плеiotропное действие на устойчивость растений, взаимодействуя с фитогормональным сигнальным путем, модулируя содержание  $Ca^{2+}$ , NO, АФК и проводимость ионных каналов [Alcázar et al., 2010].

Таким образом, главное, что необходимо помнить при рассмотрении реакции клетки растения на температурный сдвиг – это сложность и комплексность ответа, в котором отдельные его стороны должны рассматриваться без отрыва от общего контекста.

#### Литература

Alcázar R., Altabella T., Marco F., Bortolotti C., Reymond M., Koncz C., Carrasco P., Tiburcio A.F. Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance // *Planta*, 2010.- V.231, P.1237-1249.

Badea C., Basu S.K. The effect of low temperature on metabolism of membrane lipids in plants and associated gene expression // *Plant Omics J.*, 2009.- V.2, I.2.- P.78-84.

Bilgin D.D. ROS, oxidative stress and engineering resistance in higher plants / Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants / ed. S.D. Gupta.- Science Publishers, 2010.- 368 p.

Grover A., Mittal D., Negi M., Lavania D. Generating high temperature tolerant transgenic plants: Achievements and challenges // *Plant Sci.*, 2013.- V.205–206.- P. 38–47.

Horváth I., Glatz A., Nakamoto H., Mishkind M.L., Munnik T., Saidi Y., Goloubinoff P., Harwood J.L., Vigh L. Heat shock response in photosynthetic organisms: Membrane and lipid connections // *Progress in Lipid Research*, 2012.- V.51, I.3.- P.208–220.

Khraiweh B., Zhu J-K., Zhu J. Role of miRNAs and siRNAs in biotic and abiotic stress responses of plants // *BBA*, 2012.- V.1819.- P.137-148.

Ruelland E., Zachowski A. How plants sense temperature // *Env. Exp. Bot.*, 2010.- V.69, I.3.- P.225–232.

## МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ И АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ ПОЙКИЛОГИДРИЧЕСКИХ ФОТОАВТОТРОФНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Т.К. Головки, И.В. Далькэ, И.Г. Захожий,  
О.В. Дымова, Р.В. Малышев, Е.В. Коковкина

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, golovko@ib.komisc.ru

Жизнь растительного организма протекает в нестабильной среде, воздействие которой нередко вызывает стресс. Природный отбор способствует выживанию видов с адаптивными стратегиями, обеспечивающими соответствие метаболизма климату. Выявление механизмов приспособления растений к среде обитания и устойчивости к водному и температурному стрессу приобретает особое значение в связи с ожидаемыми глобальными изменениями климата. Кроме того, большая часть территории России лежит в зоне холодного климата, а другие районы нередко страдают от засухи. Пойкилогидрические фотоавтотрофы являются удобной моделью для изучения резистентности к обезвоживанию и промораживанию – факторов, вызывающих необратимые изменения в структуре и метаболизме клеток многих других живых организмов. Мхи и лишайники способны не только выживать после таких воздействий, но и быстро восстанавливать процесс фотосинтеза. Однако, несмотря на многочисленные исследования, посвященные разным аспектам биологии пойкилогидротермных фотоавтотрофов, понимание механизмов их устойчивости явно недостаточно.

В данной работе представлены результаты изучения действия и последствий десикации и температурного стресса на фотосинтетический аппарат (ФСА) пойкилогидрических фототрофных организмов. В качестве объектов использовали листостебельные мхи и листоватые лишайники, произрастающие в природных условиях бореальной зоны. Реакцию организмов на стрессовые воздействия характеризовали по показателям  $\text{CO}_2$ -газообмена (ИК-газоанализатор LCPro<sup>+</sup>, ADC BioScientific Ltd, Англия), пигментной системы (спектрофотометр UV-1700, Shimadzu, Япония; высокоэффективный жидкостный хроматограф Кнауер, Германия), индуцированной флуоресценции хлорофилла *a* ФС II (портативный флуориметр PAM -2100), активности антиоксидантных ферментов (СОД, каталаза, пероксидаза).

Содержание воды в организме играет важную роль в регуляции метаболизма и поддержании оптимального фотосинтеза мхов и лишайников [Alpert, 2000]. В оптимальных свето-температурных условиях и увлажнении листостебельные мхи бореальной зоны (*Neckera pennata*, *Polytrichum commune*, *Climacium dendroides*, виды рода *Sphagnum* и др.) и талломы модельного вида листоватого лишайника *Lobaria pulmonaria* были способны ассимилировать  $\text{CO}_2$  со скоростью 4-6 мкл /м<sup>2</sup>с. В природных условиях оводненность мхов варьировала в пределах от 65 до 90%. Наибольшим содержанием воды характеризовались сфагновые мхи, предпочитающие сырые, заболоченные участки. Потеря 25-30% влаги приводила к снижению фотосинтетической активности мхов в 1.5-2 раза. Оводненность талломов лобарии изменялась в широких пределах, от 45 до 70%, в зависимости от сезона года и количества выпадающих осадков. При подсыхании таллом сжимался, края его скручивались, и он приобретал серо-коричневую окраску. Площадь таллома уменьшалась в среднем на 30%. Ранее такая реакция была описана в работе [Bartak et al., 2006]. Функциональная активность фотобионта резко снижалась, что выражалось в уменьшении максимальной фотохимической активности ФС II ( $F_v/F_m$ ) до 0.1. Молекулярные механизмы этого явления не вполне ясны, однако речь не идет о повреждении ФС II. Определенное значение может иметь уплотнение верхнего корового слоя грибного мицелия, нарушение его светонепроницаемости и увеличение сопротивления диффузии  $\text{CO}_2$ . Увлажнение таллома водой приво-

дило к быстрому восстановлению фотохимической активности ФС II зеленой водоросли. Однако, чем дольше талломы находились в воздушно-сухом состоянии (криптобиоз), тем медленнее они восстанавливали свою активность при насыщении влагой. По имеющимся в литературе сведениям [Хебер и др., 2007] даже у обезвоженных пойкилогидрических автотрофов функционируют фотозащитные механизмы, направленные на диссипацию поглощенной световой энергии. В наших опытах насыщение воздушно-сухого таллома влагой до полного восстановления функционального состояния занимало около суток. Наиболее интенсивное поглощение влаги отмечали в течение первых 0.5-1.0 ч экспозиции талломов в насыщенной парами воды атмосфере.

Данных о температуре фазового перехода вода-лед в организме пойкилогидрических фотоавтотрофов очень мало. Для некоторых видов лишайников пограничной температурой считается  $-5^{\circ}\text{C}$ . Эта температура была критической, ниже которой наблюдали резкое уменьшение  $F_v/F_m$  [Bartak et al., 2007]. С помощью биологической калориметрии (дифференциальный сканирующий калориметр DSC-60, Shimadzu, Япония) нами выявлено, что температура фазового перехода вода-лед в талломах лобарии в весенне-летний период составляла около  $-7.5^{\circ}\text{C}$ , к началу зимы снижалась почти на  $3^{\circ}\text{C}$ . При низкотемпературном воздействии на талломы осенью в лед превращалось 30-35%, а летом – до 47% содержащейся в них воды. Это свидетельствует о существенных сезонных изменениях содержания и состояния воды в лишайнике. Зимой основная часть воды таллома (70-75%) находилась в связанном состоянии, по-видимому, за счет взаимодействия с заряженными и полярными группами белков, фосфолипидов и, возможно, высокомолекулярных спиртов. Ранней весной 2-суточное воздействие температуры  $-16^{\circ}\text{C}$  на свежесобранные талломы лобарии не оказало существенного влияния на состояние ФС II и скорость  $\text{CO}_2$ -газообмена, измеренные спустя сутки после прекращения низкотемпературного стресса. У листостебельного мха неккеры отмечали снижение квантового выхода фотохимических реакций ФС II на 25%. Осенью (сентябрь-октябрь) такое воздействие приводило к заметному снижению интенсивности фотохимии ФС II фотобионта лишайника, что может свидетельствовать о незавершенности процесса закаливания. Увеличение активности антиоксидантных ферментов – СОД, каталазы и пероксидазы весной и осенью способствовало поддержанию про/антиоксидантного баланса и препятствовало деструкции клеточных мембран в результате перекисного окисления липидов.

Зеленые пигменты в лишайниковой ассоциации являются маркерами фотобионта. Содержание хлорофиллов (Хл) в талломе лобарии составляло в среднем  $1.5-1.8 \text{ мг/дм}^2$ . В расчете на единицу массы концентрация Хл летом была на 30% больше, что свидетельствует об увеличении массовой доли водорослей в благоприятный для фотосинтеза период года. Соотношение Хл *a/b* варьировало в пределах 2-3, увеличиваясь к зиме. Пул каротиноидов (Кар) был представлен в основном ксантофиллами (80%). Уровень конверсии виолаксантинового цикла (ВКЦ) зимой был вдвое выше, чем летом, когда цикл функционировал на 20% своей потенциальной способности. Уровень дезоксидации пигментов ВКЦ возрастал на 30% при облучении талломов УФ (А+В) – радиацией в дозе около  $10 \text{ кДж/м}^2$  в день с помощью ламп типа Camelion LH 26-3U Blacklight. Однако зеленые пигменты реагировали на воздействие УФ слабо, что согласуется с данными [Larsson et al., 2009]. Повышение активности СОД в талломах под влиянием УФ можно рассматривать как адаптивную реакцию, позволяющую организму лишайника выдерживать действие прямой солнечной радиации в природных условиях.

Максимум накопления Хл в побегах листостебельного мха неккеры (свыше  $4 \text{ мг/г}$  сухой массы) отмечали к концу лета. В апреле и ноябре концентрация зеленых пигментов в побегах мха была почти вдвое ниже, что может свидетельствовать об окислитель-

ной деструкции Хл в осенне-зимний период. Соотношение Хл *a/b* варьировало в пределах 1.8-2.4, а Хл/Кар в пределах 4-6. Низкие значения относительного содержания желтых пигментов характеризуют приуроченность мха к увлажненным и затененным местообитаниям.

Фотосинтез мхов бореальной зоны довольно чувствителен к высокой температуре. Скорость видимого поглощения  $\text{CO}_2$  в побегах кукушкина льна резко снижалась после кратковременного (30 мин) воздействия температурой свыше  $35^\circ\text{C}$ . Видимый фотосинтез практически прекращался после экспозиции побегов при  $45^\circ\text{C}$ , что свидетельствует об ингибировании углеродного метаболизма (цикл Кребса). Сходные изменения были отмечены и для показателей индуцированной флуоресценции хлорофилла. Снижение  $F_v/F_m$  может свидетельствовать о конформационных изменениях белков реакционного центра (РЦ) и повреждении наиболее чувствительного к стрессу белка  $D_1$  РЦ ФС II. Почти трехкратное увеличение показателя минимальной флуоресценции ( $F_0$ ), характеризующей главным образом флуоресценцию Хл ССК ФС II, может указывать на отделение ССК от коровой части ФС II. Такой механизм можно рассматривать как защитный, вызывающий снижение уровня энергии возбуждения в ФС II. Темновое дыхание мхов более устойчиво к действию высокой температуры, чем фотосинтез. Максимум скорости темнового дыхания (около  $4 \text{ мкмоль CO}_2/\text{м}^2\text{с}$ ) регистрировали после 30 мин действия на побеги температурой  $40^\circ\text{C}$ . После 30 мин прогревания побегов при  $45$  и  $50^\circ\text{C}$  скорость дыхания составляла 50 и 25% от максимальной. Вполне вероятно, что высокая чувствительность мхов к кратковременному повышению температуры связана с относительно низким содержанием насыщенных жирных кислот, доля которых составляла в среднем 30% суммы высших жирных кислот. Известно, что обогащение липидов клеточных мембран насыщенными ЖК способствует сохранению их физических свойств при высоких температурах, тогда как ненасыщенные ЖК обеспечивают текучесть мембран при пониженных температурах. Кроме того, насыщенные ЖК более устойчивы к липопероксидации.

В целом, полученные результаты существенно углубляют и расширяют представление о функциональной активности и устойчивости пойкилогидрических фотоавтотрофов бореальной зоны.

*Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (12-04-00554) и частично УрО РАН (12-С-4-1015).*

#### Литература

Хебер У., Ланге О.Л., Шувалов В.А. Запасание и диссипация энергии света растениями как взаимно дополняющие процессы, вовлеченные в поддержание жизни растения // Проблемы регуляции в биологических системах. Биофизические аспекты / Под общей ред. А.Б.Рубина. М.-Ижевск: НИЦ «Регуляторная и хаотическая динамика», 2007. – С.195-222.

Alpert P. The discovery, scope, and puzzle of desiccation tolerance in plants // *Plant Ecology*, 2000. – V.151. – P.5-17.

Bartak M., Solhaug K.A., Vrablikova H., Gauslaa Y. Curling during desiccation protects the foliose lichen *Lobaria pulmonaria* against photoinhibition // *Oecologia*, 2006. – V.149. – P. 553-560.

Bartak M., Vaszi P., Hajek J., Smilka J. Low-temperature limitation of primary photosynthetic process in Antarctic lichens *Umbilicaria antarctica* and *Xanthoria elegans* // *Polar Biol.*, 2007. – V.31. – P.47-51.

Larsson P., Vecerova K., Cempirkova H., Solhaug K.E., Gauslaa Y. Does UV-B influence biomass growth in lichen deficient in sunscreensing pigment? // *Environ. Exp. Bot.*, 2009. – V.67. – P. 215-221.

## КАК РАСТЕНИЯ ВОСПРИНИМАЮТ И ПЕРЕДАЮТ ХОЛОДОВОЙ СИГНАЛ?

И.Е. Мошков

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, ie.moshkov@mail.ru

Растения отвечают на изменения температуры окружающей среды посредством совокупности событий, определяемых продолжительностью температурного воздействия.

Результаты исследований последнего десятилетия, проведенные как на генетическом, так и физиологическом уровнях, позволили высказать предположение о функционировании в клетках растений множества путей передачи сигналов, инициируемых при изменении температуры. Эти современные сведения стали основанием для конструирования предполагаемых путей передачи температурного сигнала. Хотя описания подобных сигнальных путей носят механистический характер, тем не менее, функционированием таких предполагаемых путей можно объяснить многочисленные данные, касающиеся изменений экспрессии генов ответа на температурный стресс. Среди генов-мишеней температурного стресса наиболее широко представлены гены, кодирующие многочисленные факторы транскрипции. Однако факторы транскрипции выполняют функцию эффекторов сигнальных путей, работа которых инициируется при изменении температуры. В связи с этим возникает вопрос о первичных событиях, происходящих при температурном стрессе. Известно, что при охлаждении и/или повышении температуры меняются текучесть мембран и концентрации катионов кальция. В настоящее время названные события принято рассматривать в качестве самых ранних реакций, контролируемых становление ответа растений на температурные воздействия. И как результат, обсуждается представление о возможной роли белков, определяющих свойства мембран, и катионов кальция в качестве сенсоров, инициирующих передачу температурного сигнала. Если это так, то возникает вопрос, какие, главным образом, биохимические события происходят между восприятием температурного сигнала и экспрессией чувствительных к изменениям температуры генов, обеспечивающих ответ растений на этот тип абиотического стресса. В докладе будут рассмотрены современные сведения, касающиеся функционирования предполагаемых сенсоров и передатчиков температурного сигнала, обеспечивающих становление физиологических процессов и развитие растений при изменениях температуры окружающей среды. Особое внимание будет уделено нерешенным к настоящему времени вопросам, ответы на которые могли бы глубже понять, как работает в клетках растений гипотетический «термометр».

*Работа автора поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 11-04-01509а).*

## КРИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ РАСТЕНИЙ ЯКУТИИ

К.А. Петров, А.А. Перк, В.А. Чепалов

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, kap\_75@bk.ru

В конце вегетационного периода с укорочением длины дня, изменением спектрального состава света и понижением температуры древесно-кустарниковые растения переходят в состояние глубокого физиологического покоя, что позволяет им пережить неблагоприятный зимний период. Эта фотопериодическая индукция прекращения роста побегов и образования зимующих органов связана с функционированием фитохрома.



Переход растений в состояние покоя обусловлен также изменением соотношения уровней активаторов и ингибиторов роста. Поэтому покоящиеся почки теряют способность распускаться при искусственном удалении листьев или при осеннем их опадении. В условиях Центральной Якутии ветки, срезанные в октябре и поставленные на тест по выходу из покоя, остаются в нем, а взятые в ноябре и, особенно, в декабре-январе, начинают распускаться. Распускание почек зимой и даже поздней весной тормозится низкими температурами (вынужденный покой) и начинается при наступлении теплых дней.

В отличие от древесных, многие осенневегетирующие травянистые растения, появляются во второй половине лета в результате скашивания или объедания летневегетирующих растений насекомыми и травоядными животными, а также под действием механических повреждений, вызванных погодными условиями. Эти повреждения индуцируют у растений процессы регенерации, что приводит к заживлению ран и восстановлению утраченных частей. При утрате апикальной почки пазушные трогаются в рост, а при массовом повреждении (объедании) надземной части растения вырастают новые побеги из активировавшихся прикорневых почек.

За дату прекращения вегетации осенью принимают переход среднесуточной температуры через  $+5^{\circ}\text{C}$ , переход через  $0^{\circ}\text{C}$  в сторону отрицательных температур – за начало зимы. Продолжительность перехода среднесуточной температуры через  $+5^{\circ}\text{C}$  до  $0^{\circ}\text{C}$  в высоких широтах России продолжается с двух до трех недель. Этот же диапазон температур наблюдается и при закаливании зимующих растений, на основании чего И.И. Тумановым [1940] были выделены две последовательные фазы закаливания, когда вторая фаза – закаливание отрицательными температурами – возможна только после воздействия низкими положительными температурами (первая фаза). Именно при снижении температуры воздуха от  $5^{\circ}\text{C}$  до  $0^{\circ}\text{C}$  у растений постепенно формируется свойство переносить низкие отрицательные температуры, чему способствует и наблюдаемый в это время термогенез.

Необходимо отметить, что в условиях криолитозоны в начале зимнего сезона сведены к минимуму такие неблагоприятные явления как выпревание и выпирание растений, связанные с отсутствием возвратных потеплений, широко распространенных в регионах с мягкой зимой. Поэтому многие осенневегетирующие виды травянистых растений, подвергаясь холодному закаливанию, сохраняются до глубокой осени в зеленом виде и в таком состоянии уходят под снег. Они являются основной кормовой базой и источником питательных и биологически активных веществ, определяющих адаптацию травоядных животных к холодному климату Якутии.

Роль фотосинтеза как ключевого «запускающего» процесса при формировании устойчивости растений к холоду и морозу также была показана в работах И.И. Туманова [1979]. По-видимому, она связана с функционированием виолаксантинового цикла. В конце вегетационного периода с укорочением длины дня и нарастанием низких положительных температур, закаливающих осенневегетирующие многолетние травянистые растения, сумма каротиноидов в их листьях увеличивается за счет повышения уровня содержания ксантофиллов виолаксантинового цикла. Анализ этих результатов и сопоставление их с данными других авторов позволяет предположить, что осенью каротиноиды выполняют не только фотосинтетическую, а главным образом защитную функцию, переводя энергию квантов света в теплоту. Таким образом, у осенневегетирующих травянистых растений криолитозоны Якутии, одним из ключевых механизмов, определяющих их устойчивость к экстремально низким температурам внешней среды, являются светоиндуцируемые обратимые взаимопревращения ксантофиллов виолаксантинового цикла.

Согласно нашим многолетним исследованиям, в период адаптации осенневегети-

рующих одно- и многолетних травянистых, а также вечнозеленых древесно-кустарниковых растений к низкотемпературному стрессу в их фотосинтетическом аппарате (ФСА) наблюдается уменьшение эпоксиантофилла – виолаксантина и возрастание безэпоксидного лютеина (во фракции с зеаксантином) [Петров и др., 2010, 2011]. Следует отметить, что еще в 1957 г. Д.И.Сапожников с соавторами впервые обнаружили подобное изменение содержания ксантофиллов ФСА при освещении листьев растений сильным светом. Однако он полагал, что на сильном свете виолаксантин превращается в лютеин, а не в зеаксантин, как вскоре выяснил Н. Yamamoto [1979]. Впоследствии это открытие было названо «виолаксантиновым циклом Сапожникова».

В настоящее время только зеаксантину отводится основная роль в защите ФСА от фотодинамического разрушения при неблагоприятных условиях, например, при избытке света. Именно зеаксантин способен рассеивать излишек световой энергии в форме

тепла. По видимому, при низкотемпературном воздействии побеги осенневегетирующих травянистых растений способны определенное время поддерживать температуру выше 0°C за счет термогенеза [Чиркова, 2002]. Это является результатом ряда термогенных систем, включающих не только пигменты виолаксантинового цикла, но и митохондриальные полиеновые жирные кислоты [Скулачев, 1998], а также цитоплазматические белки: БХШ 310 и др. [Колесниченко, Войников, 2003; Войников, 2011].

Таким образом, временный термогенез способствует образованию при температуре около 0°C в растительной клетке больших количеств самых энерго- и материалоемких веществ (сахара, белки и липиды) [Трунова, 2007], являющихся основой адаптации травоядных животных к холодному климату Якутии (рис.) [Petrov et al., 2012].



**Рис. Влияние криорезистентности растений через их питательную ценность на адаптацию и криорезистентность животных в условиях Якутии**

## Литература

- Войников В.К. Митохондрии растений при температурном стрессе. – Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2011. – 163 с.
- Колесниченко А.В., Войников В.К. Белки низкотемпературного стресса растений. – Иркутск: СО РАН, 2003. – 196 с.
- Петров К.А., Софронова В.Е., Бубякина В.В., Перк А.А., Татарина Т.Д., Пономарев А.Г., Чепалов В.А., Охлопкова Ж.М., Васильева И.В., Максимов Т.Х. Древесные растения Якутии и низкотемпературный стресс // Физиология растений, 2011. – Т. 58. – №6. – С. 866-874.
- Петров К.А., Софронова В.Е., Чепалов В.А., Перк А.А., Максимов Т.Х. Сезонные изменения содержания фотосинтетических пигментов у многолетних травянистых растений криолитозоны // Физиология растений, 2010. – Т. 57. – №2. – С. 192-199.
- Сапожников Д.И., Красовская Т.А., Маевская А.Н. Изменение соотношения основных каротиноидов пластид зеленых листьев при действии света // Докл. АН СССР, 1957 – Т.113. – №2. – С. 465-467.
- Скулачев В.П. Альтернативные пути клеточного дыхания // СОЖ, 1998. – №8. – С. 2-7.
- Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс. – М.: Наука, 2007. – 54 с.
- Туманов И.И. Физиологические основы зимостойкости культурных растений. – М.-Л.: Сельхозгиз, 1940. – 366 с.
- Туманов И.И. Физиология закаливания и морозостойкости растений. – М.: Наука, 1979. – 350 с.
- Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2002. – 244 с.
- Yamamoto H.Y. Biochemistry of the Violaxanthin Cycle in Higher Plants // Pure Appl. Chem., 1979. – V.51. – P. 639-648.

## **ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ С ГИБРИДНЫМИ СТЕРОИДОГЕННЫМИ СИСТЕМАМИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ НА БИОПАТОГЕНЫ И СТРЕСС**

Г.В. Шпаковский<sup>1</sup>, С.Г. Спивак<sup>1</sup>, Н.А. Картель<sup>2</sup>, И.Н. Бердичевец<sup>2</sup>,  
И.Ю. Словохотов<sup>1</sup>, М.Р. Халилуев<sup>3</sup>, Д.Г. Шпаковский<sup>1</sup>, Е.К. Шематорова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, gvs@ibch.ru

<sup>2</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск, Sve\_spivak@mail.ru

<sup>3</sup>Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, marat131084@rambler.ru

Высшие растения, как правило, лишены подвижности, так свойственной животным, а потому основным способом их выживания в условиях всё возрастающего давления различных абиотических стрессов является перестройка физиологии организма, основанная на довольно существенных изменениях механизмов метаболизма, прежде всего генной экспрессии тех или иных регуляторов клеточных процессов. В связи с этим, одним из перспективных направлений формирования устойчивости растений к экстремальным природным условиям и техногенной среде является метаболическая инженерия регуляторов роста и развития, например, моделирование метаболизма стероидных соединений с гормональными свойствами. Присутствие стероидов практически в каждом живом организме доказывает их важность в вопросах хемосистематики и химической экологии царств Plantae и Animalia.

Долгое время считалось, что процессы синтеза стероидов в растительных и животных клетках кардинально разнятся, однако результаты последних лет, в том числе полученные нами данные *in planta* (см. ниже) указывают на общее происхождение и явное сходство путей и механизмов превращений этого класса биомолекул [Janeczko, 2012]. Одно из фундаментальных отличий стероидных гормональных систем животных и растений состоит в том, что у растений отсутствует локализованный в митохондриях и уникальный для Animalia цитохром P450<sub>SCC</sub> (CYP11A1), который, совместно с двумя другими компонентами митохондриальной электронтранспортной цепи, аденодоксином (ADX) и аденодоксинредуктазой (ADXR), катализирует гидроксирование холестерина с превращением его в прегненолон – общий предшественник всех стероидных гормонов животных. Нами получены, а в случае двух первых видов уже всесторонне охарактеризованы трансгенные растения табака *Nicotiana tabacum*, наперстянки *Digitalis purpurea* и томата *Solanum lycopersicum*, экспрессирующие кДНК CYP11A1 этого цитохрома из коры надпочечников быка – и, тем самым, впервые продемонстрирована функциональная совместимость *in vivo* даже самых эволюционно отдалённых элементов стероидогенных систем Plantae и Animalia [Картель и др., 2004; Спивак и др., 2009].

Изучение четырёх поколений трансгенных растений табака показало, что они, по сравнению с растениями дикого типа, имеют сокращенный период вегетативного развития (раннее цветение и созревание семян), увеличенную биомассу и повышенную продуктивность (количество и качество семян), а также повышенный иммунитет к таким фитопатогенам, как *Botrytis cinerea* (некротические поражения листьев на уровне 0-2 баллов по сравнению с 7 баллами у восприимчивых растений дикого типа) [Картель и др., 2004; Халилуев и Шпаковский, 2013]. Изменяется метаболизм и трансгенных растений наперстянки пурпурной: нами показано, что они обладают повышенной способностью к биосинтезу кардиотонических стероидных гликозидов.

Установлено, что в трансгенных растениях синтезируется прегненолон, а содержание в них прогестерона превышает его количество в растениях дикого типа. Высказано предположение, что прогестерон, который по последним данным участвует в регуляции вегетативного и генеративного развития растений, обуславливает особенности фенотипа полученных трансгенных растений табака [Спивак и др., 2010]. Весомыми аргументами в поддержку этой гипотезы являются недавние работы по обнаружению, характеристике и даже выделению в гомогенном состоянии прогестерона и/или других стероидных гормонов животных из таких различных видов растений, как *Nicotiana tabacum*, *Digitalis purpurea*, *Inula helenium*, *Juglans regia* и *Adonis aleppica* [Simerský et al., 2009; Pauli et al., 2010]. По-видимому, именно повышенный уровень эндогенного прогестерона позволяет трансгенным растениям табака, как свидетельствуют наши предварительные данные, успешно переносить (в отличие от контрольных растений дикого типа) продолжительную засуху и голодание. Повышенный уровень прогестерона может помочь растениям в преодолении и ряда других абиотических стрессов: литературные данные свидетельствуют о том, что обработка растений прогестероном способна заменить необходимость продолжительного светового дня для правильного развития молодых растений арабидопсиса и обработки холодом ростков озимой пшеницы [Janeczko & Filek, 2002; Janeczko, 2012]. Недавно на примере нута (турецкого гороха) было показано, что прогестерон стимулирует активность таких антиоксидантных ферментов, как каталаза, что может существенно повысить способность растений противостоять фотооксидативному стрессу [Erdal & Dumlupinar, 2011].

Поскольку уникальный только для животных ключевой фермент стероидогенеза CYP11A1 функционирует в митохондриях вместе с FAD-содержащим флавопротеидом ADXR (аденодоксинредуктазой) и [2Fe-2S]-ферредоксином ADX (аденодоксином),

важно было понять, какие белки выполняют функцию этих партнёров цитохрома P450<sub>SCC</sub> в растениях – тем более, что даже существование митохондриальных цитохромов у растений до сих пор не доказано. В результате, нами впервые структурно охарактеризованы основные компоненты митохондриальной электронтранспортной цепи растений: клонированы и установлена структура кДНК и генов аденодоксиноподобных ферредоксинов табака, томата, картофеля семейства Solanaceae и наперстянки *Digitalis purpurea* семейства Scrophulariaceae. Установлено, что у растений семейства Solanaceae имеются два разных гена ферредоксинов митохондриального типа (*MFDX1* и *MFDX2*), имеющие сходную экзон-интронную структуру (содержат по 8 экзонов) и кодирующие предшественники аденодоксиноподобных белков, различающиеся прежде всего по структуре N-концевого участка белка (кодируется первым и вторым экзонами), соответствующего лидерному пептиду. Определена первичная структура кДНК и гена, кодирующего белок *MFDXR Nicotiana tabacum*, структурно родственной *ADXR* животных. Полученные результаты указывают на несомненное сходство электронтранспортных цепей P450-зависимых монооксигеназ в митохондриях животных и растений.

Таким образом, создание трансгенных растений с комбинированными стероидогенными системами открывает новые горизонты как фундаментальных (открытие новых компонентов электронтранспортной цепи растительных митохондрий, изучение влияния стероидных гормонов животных на устойчивость растений к экстремальным природным условиям), так и социально ориентированных (использование генов стероидогенеза животных в сельском хозяйстве для ускорения процессов роста и развития, повышения иммунитета и урожайности растений; изменение спектра синтезируемых в лекарственных растениях типа наперстянки веществ стероидной природы с возможностью получения новых, важных для фармакологии соединений) научных исследований.

*Работа выполнялась при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) и программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» (направление «Функциональная геномика»).*

#### Литература

Картель Н.А., Шпаковский Г.В., Спивак С.Г., Бричкова Г.Г., Ярмолинский Д.Г., Бердичевец И.Н., Манешина Т.В. Патент РФ на изобретение № 2237717 «Рекомбинантная плазида rGBP450f для получения трансгенных растений и способ получения трансгенных растений табака с повышенной продуктивностью и устойчивостью к грибным фитопатогенам». Заявка № 2002134424/13. Приоритет от 20.12.2002. Зарегистр. 10.10.2004.

Спивак С.Г., Бердичевец И.Н., Ярмолинский Д.Г., Манешина Т.В., Шпаковский Г.В., Картель Н.А. Создание и характеристика трансгенных растений табака *Nicotiana tabacum* L., экспрессирующих кДНК *CYP11A1* цитохрома P450<sub>SCC</sub> // Генетика, 2009. – Т. 45. – №9. – С. 1217–1224.

Спивак С.Г., Бердичевец И.Н., Литвиновская Р.П., Драч С.В., Картель Н.А., Шпаковский Г.В. Некоторые особенности метаболизма стероидов в трансгенных растениях табака *Nicotiana tabacum*, несущих кДНК *CYP11A1* цитохрома P450<sub>SCC</sub> из коры надпочечников быка // Биоорганическая химия, 2010. – Т. 36. – №2. – С. 241–250.

Халилуев М.Р., Шпаковский Г.В. Генно-инженерные стратегии повышения устойчивости томата к грибным и бактериальным патогенам // Физиология растений, 2013. – Т. 60. – №6 (в печати).

Erdal S., Dumlupinar R. Mammalian sex hormones stimulate antioxidant system and enhance growth of chickpea plants // Acta Physiologiae Plantarum, 2011. – V. 33. – №3. – P.

1011-1017.

Janeczko A. The presence and activity of progesterone in plant kingdom // *Steroids*, 2012. – V. 77. – №3. – P. 169-173.

Janeczko A., Filek W. Stimulation of generative development in partly vernalized winter wheat by animal sex hormones // *Acta Physiologiae Plantarum*, 2002. – V. 24. – №1. – P. 291-295.

Simerský R., Novák O., Morris D.A., Pouzar V., Strnad M. Identification and quantification of several mammalian steroid hormones in plants by UPLC-MS/MS // *J. Plant Growth Regul.*, 2009. – V. 28. – №3. – P. 125-136.

Pauli G.F., Friesen J.B., Gödecke T., Farnsworth N.R., Glodny B. Occurrence of progesterone and related animal steroids in two higher plants // *J. Nat. Prod.*, 2010. – V. 73. – №3. – P. 338-345.

# **СЕКЦИЯ 1. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО ОРГАНИЗМА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРИРОДНЫХ И ТЕХНОГЕННЫХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ**

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ И МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВОСТИ ГЕНОТИПОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В ТЕХНОГЕННОМ АГРОЦЕНОЗЕ**

Р.А. Алыбаева, С.С. Кенжебаева, С.Д. Атабаева

КазНУ им. аль-Фараби, Алматы, ray\_aa@mail.ru, kenzhebaevas@mail.ru, Saule.Atabayeva@kaznu.kz

Быстрая индустриализация, происходящая в последние десятилетия, сопровождается негативными воздействиями на окружающую среду. Загрязнение окружающей среды и ухудшение качества жизни человека требуют развития и широкого использования способов регулирования окружающей среды. Одной из составляющих экологически чистых технологий является использование и создание техногенно-устойчивых сортов сельскохозяйственных культур, характеризующихся минимальным накоплением загрязнителей. Богатый ресурсно-сырьевой потенциал Казахстана явился основой для развития мощной индустрии. Однако именно промышленные центры являются районами наибольшего загрязнения различных сред тяжелыми металлами, поэтому проблема использования экологически чистых технологий на загрязненных площадях актуальна для Казахстана

Растения, выращиваемые на загрязненных почвах, проявляют значительные межвидовые различия в ответных реакциях на загрязнение. Существенные различия по устойчивости к действию почвенных загрязнителей наблюдались также между отдельными сортами различных видов сельскохозяйственных растений [Молчан,1996]. Исследованиями других авторов показана значительная вариабельность устойчивости *Triticum* к тяжелым металлам на видовом и сортовом уровнях. На основании материала, полученного при скрининге генофонда пшеницы и использовании генетических моделей, авторы развивают представления о возможности управления признаками эдафической устойчивости селекционным методом [Гамзикова, 1996]. На первой стадии этого процесса необходимо изучение генофонда культурных и дикорастущих растений, выделение устойчивых форм растений и доноров, накапливающих минимальное количество экотоксикантов в товарной части урожая [Молчан,1996].

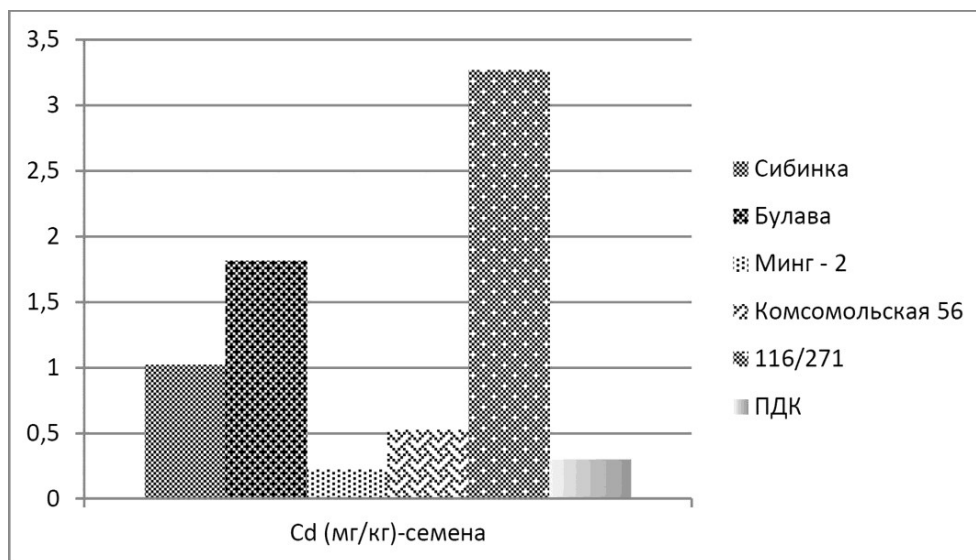
Объекты и методы исследования. Объектом исследования явилась пшеница, которая широко возделывается в Казахстане. Исследовались различные генотипы озимой пшеницы, районированные в регионе Восточного-Казахстана. Растения выращивались на научно-испытательном участке, в пригородной зоне г.Усть-Каменогорска Восточно-Казахстанской области, в условиях естественного загрязнения почвы кадмием, медью, свинцом и цинком, которые являются приоритетными загрязнителями почвы Восточно-Казахстанского региона [Алыбаева, 2007].

Содержание кадмия в почве и в органах растений определяли методом атомной абсорбции на приборе AAnalyst 300 фирмы "Perkin Elmer". Проведение опытов и определение физиологических показателей проводилось по методике полевого опыта.

Результаты исследования и их обсуждение. Исследование содержания кадмия в почве прикорневой зоны различных генотипов озимой пшеницы показали превышение концентрации этого металла по отношению к ПДК.

Исследование накопления исследуемого тяжелого металла в органах озимой пшеницы показало, что кадмий накапливается преимущественно в корнях и листьях, присутствует также в стеблях и семенах.

Исследование содержания кадмия в семенах генотипов озимой пшеницы представляется наиболее важным, так как зерно пшеницы используется в пищевой промышленности. Результаты показали, что наибольшее накопление кадмия наблюдается в семенах растений сорта 116/271, среднее – сортов Булава и Сибинка, меньшее – сорта Комсомольская-56, наименьшее – сорта Минг-2 (рис. 1).



**Рис. 1** Содержание кадмия и свинца в семенах различных генотипов озимой пшеницы.

Содержание кадмия превышает ПДК для зерна почти во всех вариантах опыта, только такой генотип, как Минг-2 содержит кадмия меньше уровня ПДК, а генотип Комсомольская-56 - на уровне ПДК. Наибольшее количество кадмия, значительно превышающее ПДК, накапливают семена генотипа 116/271, меньшее, но также значительно превышающее ПДК – Булава и Сибинка.

Исследования фенологических показателей показали, что по количеству взошедших растений наилучшие показатели у сортов 116/271 и Булава, средние - у сорта Минг 2, наименьшие - у сортов - Сибинка и Комсомольская 56. Количество растений перед зимовкой наибольшее у сортов - 116/271 и Минг 2, среднее - у сортов Булава и Комсомольская 56, наименьшее - у сорта Сибинка. Количество растений вначале вегетации наибольшее у генотипов Минг 2 и 116/271. Количество растений перед уборкой наибольшее у сортов Минг 2 и 116/271, среднее - у сорта Булава и наименьшее- у сортов Сибинка и Комсомольская 56. Это свидетельствует о том, что наиболее устойчивыми к неблагоприятным условиям среды перезимовки и летней вегетации оказались сорта 116/271 и Минг 2, процент сохранившихся растений наибольший у этих сортов.

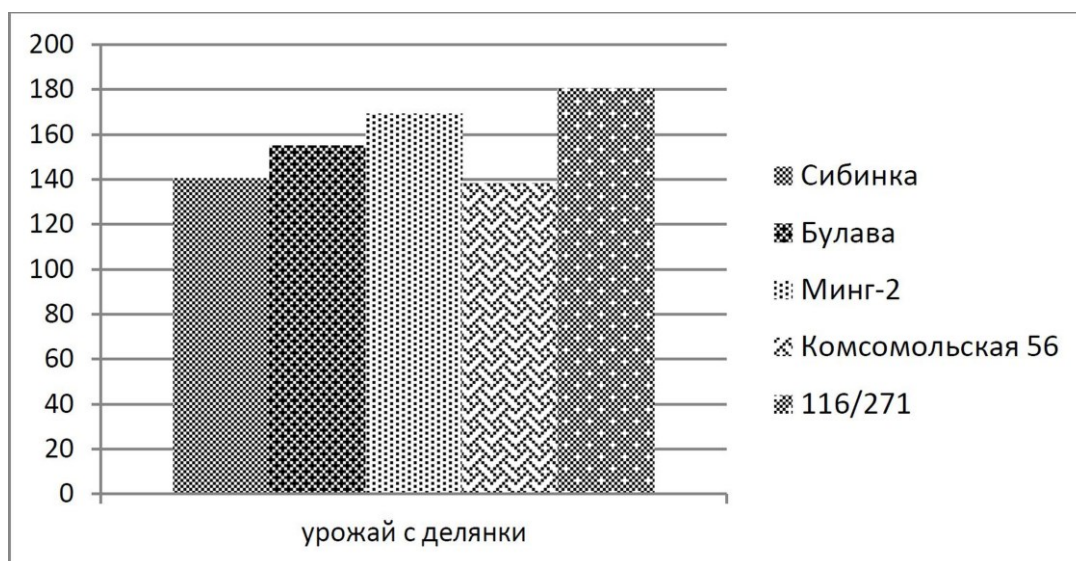
Исследование урожайности растений с делянки показало, что среди изучаемых генотипов наибольшую урожайность показывает сорт озимой пшеницы 116/271, несколько меньшую - сорт Минг 2, меньшую - сорт Булава и наименьшую - сорт Комсомольская 56 и Сибинка (рис. 2).

Исследование накопления сухой биомассы растений в фазу начала весенней вегетации показало, что среди изучаемых генотипов наибольшую биомассу накапливают сорта озимой пшеницы 116/271 и Минг 2, меньшую - сорт Булава и наименьшую - сорт Комсомольская 56 и Сибинка.

Проведенные исследования вегетативных показателей и урожайности выявили,



что сорта Минг-2 и 116/271, отличаются более быстрым вхождением в фазу кушения, большим накоплением сухого вещества, большей урожайностью, лучше проходят перезимовку и лучше сохраняются в неблагоприятных условиях летней вегетации, по сравнению с другими генотипами.



**Рис. 2 Урожай с делянки различных генотипов озимой пшеницы при их (выращивании в естественных условиях загрязнения среды (г/м<sup>2</sup>)).**

Таким образом, исследования показали, что урожайность озимой пшеницы связана их способностью быстро накапливать органическое вещество, быстрее входить в фазу кушения, успешно перезимовывать, сохраняться во время летней вегетации.

Сорта озимой пшеницы Минг-2 и Комсомольская 56 можно рекомендовать для их дальнейшего использования в селекции на металлоустойчивость. Сорт озимой пшеницы Минг-2 является пластичным сортом - мало накапливает кадмий, имеет хорошие показатели развития, перезимовки, урожайности, его можно рекомендовать для выращивания на загрязненных почвах. Пластичные (адаптивные) сорта со стабильной урожайностью, метаболизмом, качеством продукции, генетическими системами, а также повышенной избирательностью корневых систем, отзывчивостью на удобрения и более эффективным использованием минеральных удобрений будут отличаться минимальным накоплением загрязнителей в товарной части урожая [Щербаков, 1981]. Так как большинство из этих параметров характерно для сорта Минг-2, его можно отнести к пластичным, адаптивным сортам.

#### Литература

Алыбаева Р.А. Оценка экологического состояния почв города Усть-Каменогорска // Вестник КазНУ. Серия экологическая. -2007. -№ 2 (21). -С.40-44.

Гамзикова О.И. Генетический потенциал пшеницы по устойчивости к тяжелым металлам // Наука агропром. Комплексу Сибири: Матер. общ. собр. и науч. сесс. СО РАСХН, Абакан, 1-3 авг. 1996. – Новосибирск. -1996. -С. 32-34.

Щербаков Е.М. Эволюционно-генетическая теория биологических систем: гомеостаз, значение для развития теории селекции //Вест. с.-х. науки. -1981. -№3. -С.56-67.

Молчан И.М. Селекционно-генетические аспекты снижения содержания экотоксикантов в растениеводческой продукции // Сельскохозяйственная биология. -1996. -№ 1. -С.55-66.

## ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ХВОИ *JUNIPERUS SIBIRICA* (*CUPRESSACEAE*) В ЭКОТОНЕ ЛЕС-ТУНДРА (ХИБИНЫ, КОЛЬСКИЙ П-ОВ)

Н.А. Артемкина

Институт проблем промышленной экологии Севера КНЦ РАН, Апатиты, artemkina@inep.ksc.ru

В Хибинах произрастает разновидность можжевельника обыкновенного, которая была определена как *Juniperus communis* L. var. *saxatilis* Pall. При этом отмечено, что во многих сводках и определителях *J. c. var. saxatilis* Pall. считается самостоятельным видом *Juniperus sibirica* Burgsd. [Хантемирова, Семерилов, 2009].

Широтные и высотные градиенты можно рассматривать как естественные, долгосрочные аналоги изменения климата [Aerts, 2006]. Экологические условия роста в Хибинах отличаются значительно от подножия горного массива до его вершины: происходит высотный переход от леса к тундре. Следовательно, можно предположить, что химический состав хвои можжевельника будет отличаться между растениями, произрастающими в различных условиях. В дополнение к высотному градиенту, химический состав хвои может изменяться в последовательных стадиях арктических лесных экосистем. Предыдущие исследования показали в частности, что содержание фенольных соединений в хвое можжевельника (*Juniperus communis*) повышается с увеличением широты и высоты произрастания [Martz et al., 2009].

Наше исследование направлено на изучение содержания лигнина, целлюлозы, липидов, некоторых групп фенольных соединений в хвое разного возраста *Juniperus sibirica*, произрастающего в экотоне лес-тундра г. Тульйок Хибинского горного массива.

Территория исследования расположена в центре Кольского полуострова, на г. Тульйок Хибинского горного массива (N67.70 E33.79), и представляет собой высотный переход от леса к тундре. Отбор образцов проводили в двукратной повторности в поясах еловых лесов, березовых лесов и тундр. Пробные площади были заложены в ельнике зеленомошно-кустарничковом; в березовом криволесье (березняк зеленомошно-кустарничковый); в кустарничково-зеленомошной горной тундре (тундра 1); в каменисто-лишайниковой горной тундре (тундра 2). Перепад высот по всему экотону от 350 до 550 м над ур. м. Подробное описание площадок отбора было представлено ранее [Orlova et al., 2012].

Содержание лигнина и целлюлозы определяли путем обработки пробы 72%-ной серной кислотой, после предварительного кипячения в растворе ЦТАБ (10 грамм цетильтриметиламмония бромида в 1 л 0.5М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) [Rowland, Roberts, 1994]. Количественное определение суммы фенольных соединений в образцах проводили фотоколориметрическим методом Свейна-Хиллиса с реактивом Фолина-Чокальтеу на КФК-3 при длине волны 730 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм [Swain, Hillis, 1959]. Количественное определение растворимых и связанных в клеточной стенке конденсированных таннинов (проантоцианидинов) в образцах проводили фотоколориметрическим методом на КФК-3 при длине волны 555 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм после реакции полученного извлечения и сухого остатка с раствором н-бутанол:НCl (95:5 v/v) [Ossipova et al., 2001]. Расчет количества фенольных соединений и таннинов производили по калибровочным графикам, построенным по галловой кислоте и конденсированным таннинам листьев *Betula pubescens* ssp. *czerepanovii* соответственно. Липиды представляют собой фракцию веществ, перешедших в гексан. Количественное определение суммы флавоноидов проводили фотоколориметрическим методом на КФК-3 при длине волны 410 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм после реакции полученного извлечения с 0,05 М раствором AlCl<sub>3</sub> в этаноле [Бузук и др., 2007]. Результаты анализов

выражали в кверцетиновом эквиваленте.

Таблица

Химический состав хвои разных возрастов *Juniperus sibirica* в поясах еловых лесов, березовых лесов и тундр (представлены средние значения, n=1-4).

Параметры	Еловый лес			Берёзовый лес			Тундра 1			Тундра 2		
	Тек. год	1-й год	2-7 год	Тек. год	1-й год	2-7 год	Тек. год	1-й год	2-7 год	Тек. год	1-й год	2-7 год
Лигнин (%)	14.1	19.6	27.9	14.0	16.0	18.0	16.7	19.0	26.5	16.5	18.6	22.6
Целлюлоза (%)	17.1	17.2	20.9	21.1	19.5	18.1	19.6	17.8	20.8	20.6	19.3	18.7
Лигнин: целлюлоза	0.82	1.14	1.33	0.66	0.82	0.99	0.85	1.07	1.27	0.80	0.96	1.21
Липиды (%)	7.4	8.3	11.3	7.0	9.5	10.4	7.8	9.0	15.7	7.3	8.7	9.8
Фенольные соединения (мг/г)	67.9	70.3	77.9	62.7	70.7	70.6	66.6	71.5	88.2	76.6	82.7	86.1
Растворимые проантоцианидины (мг/г)	64.4	67.2	75.4	60.0	58.9	56.1	60.0	59.8	58.5	64.1	62.7	59.7
Проантоцианидины клеточной стенки (мг/г)	7.6	6.5	6.4	5.7	5.6	4.3	6.5	6.5	6.3	5.8	5.6	5.0
Флавоноиды (мг/г)	13.2	11.4	8.8	15.4	13.0	10.4	16.9	13.1	12.3	15.0	14.0	12.6

Примечание. Тек. - текущий год.

Анализ полученных результатов показал существенные возрастные трансформации в химическом составе хвои можжевельника, которые выражались в повышении содержания лигнина, липидов и фенольных соединений в процессе старения хвои. Ранее, такое увеличение концентраций было установлено среди хвойных для фенольных соединений в хвое *Pinus nigra* [Giertych et al., 1999], *Picea abies* и *Picea pungens* [Soukupová et al., 2001]; для лигнина в хвое *Pinus sylvestris* [Lukjanova, Mandre, 2010] и Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco) [Horner et al., 1987]. Не было выявлено какой-либо связи между возрастом хвои и содержанием целлюлозы. Концентрации растворимых проантоцианидинов в можжевельнике с возрастом хвои значительно не изменялись на всех площадках произрастания, за исключением елового леса, где было отмечено накопление растворимых проантоцианидинов в более старой хвое. Такое накопление может быть проявлением аллелопатических взаимодействий, ведь известно, что ель содержит значительное количество аллелохимикатов [Gallet, Lebreton, 1995]. Приведенные в таблице величины свидетельствуют о понижении концентраций проантоцианидинов клеточной стенки и флавоноидов в хвое старших возрастов *Juniperus sibirica*. Эти данные согласуются с уже существующим исследованием, в котором сообщают о том, что содержание флавоноидов в зрелых иглах *Picea abies* было ниже и их состав менее разнообразен, чем в молодой хвое [Slimestad, Hostettmann, 1996].

При увеличении высоты относительно уровня моря выявили незначительное повышение количества лигнина в хвое текущего года *Juniperus sibirica*, в то время как, в хвое остальных возрастных классов содержание лигнина имеет тенденцию к снижению, если не принимать во внимание концентрации лигнина в хвое можжевельника в поясе берёзовых лесов, где они минимальны. Содержание целлюлозы с увеличением абсолютной высоты практически не изменяется (коэффициент вариации (Cv) составляет 7.5%). Наибольшее количество липидов накапливается в старой хвое можжевельника.

ка, произрастающего в кустарничково-зеленомошной горной тундре (тундра 1). Определили, что содержание суммы фенольных соединений в хвое всех возрастов было выше в поясах тундр по сравнению с берёзовым и еловым лесом. Концентрации растворимых проантоцианидинов колеблются незначительно, за исключением еловых лесов, где их значения максимальны. В поясе берёзовых лесов зафиксированы наименьшие показатели для проантоцианидинов клеточной стенки. Содержание флавоноидов в хвое 1-го года и многолетней увеличивается при повышении высоты относительно уровня моря. Данную закономерность обычно объясняют зависимостью синтеза флавоноидов от интенсивности освещения (УФ-излучения) и температуры [Martz et al., 2009].

Наши результаты демонстрируют, что с увеличением абсолютной высоты в Хибинских горах происходит закономерное изменение состава хвои *Juniperus sibirica*, которое выражается, главным образом, в повышении содержания суммы фенольных соединений и флавоноидов. С повышением возраста хвои происходит накопление лигнина, липидов, фенольных соединений и понижение концентраций флавоноидов и связанных проантоцианидинов.

#### Литература

Бузук Г.Н., Кузьмичева Н.А., Руденко А.В. Морфометрия лекарственных растений. 2. *Vaccinium myrtillus* L.: взаимосвязь морфологических признаков и химического состава // Вестник фармации. 2007. Т. 35. № 1. С. 1-12.

Хантемирова Е.В., Семериков В.Л. Аллозимный полиморфизм разновидностей можжевельника обыкновенного // Лесоведение. 2009. №1. С. 74-77.

Aerts R. The freezer defrosting: global warming and litter decomposition rates in cold biomes // Journal of Ecology. 2006. V. 94. № 4. P. 713–724.

Gallet C., Lebreton P. Evolution of phenolic patterns in plants and associated litters and humus of a mountain forest ecosystem // Soil Biology and Biochemistry. 1995. V. 27. № 2. P. 157-165.

Giertych M. J., Karolewski P., de Temmerman L.O. Foliage age and pollution alter content of phenolic compounds and chemical elements in *Pinus nigra* needle // Water, Air, and Soil Pollution. 1999. V. 110. № 3-4. P. 363–377.

Horner J.D., Cates R.G., Gosz J.R. Tannin, nitrogen, and cell wall composition of green vs. senescent Douglas-fir foliage // Oecologia. 1987. V. 72. № 4. P. 515-519.

Lukjanova A., Mandre M. Effects of Alkalization of the Environment on the Anatomy of Scots Pine (*Pinus sylvestris*) Needles // Water, Air and Soil Pollution. 2010. V. 206. № 1-4. P. 13–22.

Martz F., Peltola R., Fontanay S., Duval R. E., Julkunen-Tiitto R., Stark S. Effect of latitude and altitude on the terpenoid and soluble phenolic composition of juniper (*Juniperus communis*) needles and evaluation of their antibacterial activity in the boreal zone // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2009. V.57. № 20. P. 9575–9584.

Orlova M.A., Lukina N.V., Tutubalina O.V., Smirnov V.E., Isaeva L.G., Hofgaard A. Soil nutrient's spatial variability in forest-tundra ecotones on the Kola Peninsula, Russia // Biogeochemistry. 2012. (accepted, First Online) (DOI) 10.1007/s10533-012-9756-6

Ossipova S, Ossipov V, Haukioja E, Lojonen J, Pihlaja K. Proanthocyanidins of mountain birch leaves: quantification and properties // Phytochemical Analysis. 2001. Vol. 12. № 2. P. 128–133.

Slimestad R., Hostettmann K. Characterisation of Phenolic Constituents from Juvenile and Mature Needles of Norway Spruce by Means of High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry // Phytochemical analysis. 1996. V. 7. № 1. P. 42–48.

Soukupová J., Rock B. N., Albrechtová J. Comparative study of two spruce species in a polluted mountainous region // New Phytologist. 2001. V. 150. № 1. P. 133–145.

Swain J., Hillis W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents // Journal of the Science of Food and Agriculture. 1959. V. 10. № 1. P. 63–68.

## ИЗМЕНЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В ОТВЕТ НА ОПРЫСКИВАНИЕ РАСТВОРОМ СЕРНОЙ КИСЛОТЫ

Н.В. Астраханцева, Н.Е. Судачкова

Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, institute\_forest@ksn.krasn.ru, astr\_nat@mail.ru

Изучение действия кислотных осадков на метаболизм древесных растений в зонах промышленного загрязнения затруднено из-за присутствия других токсикантов. Для исключения их влияния на состояние особей используют модельные эксперименты с искусственным опрыскиванием растений слабым раствором кислоты, обычно серной. Однако опрыскивание проводится либо однократно, либо несколько раз подряд на протяжении короткого периода времени [Zobel, Nighswander, 1991; Житкова, 2003], что может исказить реальную картину. Поэтому был заложен четырехлетний эксперимент с имитацией редкого выпадения кислотных осадков.

В 35 км к северу от г. Красноярска (лесостепная зона) на заброшенных сельхозугодиях среди 5-12-летнего самосева сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) отобрали свободно растущие 6-летние деревья сосны, близкие по морфометрическим параметрам. Шесть опытных деревьев в 2008-2009 гг. по четыре раза за вегетационный период опрыскивали раствором серной кислоты (рН 3,2), шесть контрольных деревьев не опрыскивали. Так как по литературным данным рН кислотных осадков может опускаться до значения 1.7 [Zobel, Nighswander, 1991], то в 2010 году рН последовательно снижали от значения 2.4 до 1.8. В 2011 году изучали параметры хвои образовавшейся после прекращения действия антропогенного стресса. В этом же году вблизи от корневой шейки брали высечки, содержащие луб и пять годичных слоев ксилемы. На протяжении эксперимента измеряли морфометрические показатели хвои в средней части кроны, определяли содержание хлорофиллов, каротиноидов, глутатиона, измеряли активность аскорбатпероксидазы, пероксидазы и глутатионредуктазы. В 2008-2009 гг. отбирали образцы хвои для исследования аминокислотного состава.

В работе Е.А. Житковой [2003] было показано, что однократная обработка деревьев сосны раствором серной кислоты нарушает отток ассимилятов из хвои, а ингибирование загрузки терминальной флэемы по симпласту тем сильнее, чем ниже значение рН. В результате затруднения оттока ассимилятов снижается активность верхушечных и латеральных меристем. Нами первое опрыскивание было проведено в период завершения роста хвои в длину, поэтому хвоя, образованная в первый год эксперимента не отличалась по длине от контроля, но была меньшей по массе из-за отставания роста в толщину. Начиная со второго года эксперимента, длина хвоинок в опыте была больше, чем в контроле на 4-11 %, а сухой вес на 16-20 % соответственно, включая хвою, образованную в сезон без опрыскивания. Стимулирующее действие слабого загрязнения серой и кислотного дождя с рН выше 3,0 на рост отмечали и другие исследователи [Сухарева, 2004; Терехова и др., 2008]. Соотношение приростов ксилемы в нижней части ствола опытных и контрольных деревьев не изменилось в начале эксперимента, однако уже в следующем сезоне приросты в опытных вариантах превзошли контрольные почти на треть. Далее различия уменьшались и на следующий год после прекращения опрыскивания приблизились к контролю. По приростам ствола в высоту на протяжении эксперимента опытные и контрольные деревья достоверно не отличались.

В результате опрыскивания часть ионов из раствора через устьица попадает внутрь хвоинок. Изменение осмотического потенциала влияет на активность ряда ферментов, включая ферменты окислительно-восстановительных систем [Бухарина и др., 2007]. Непосредственно после опрыскивания наблюдали снижение активности пероксидазы и увеличение активности аскорбатпероксидазы. В конце третьего года эксперимента активность аскорбатпероксидазы сравнивалась с контролем. Активность глутатионредуктазы, как правило, в опыте была выше, чем в контроле. Для пероксидазы наблюдали обратную картину, хотя обычно ее активность при действии стрессов увеличивается [Половникова, Воскресенская, 2008; Неверова, 2009]. Низкой активности пероксидазы соответствовала высокая, по сравнению с контролем, активность либо аскорбатпероксидазы, либо глутатионредуктазы. Изменение активности ферментов способствовало детоксикации избытков сульфат-ионов и вовлечению их в метаболизм. Один из основных путей детоксикации сульфат-иона в растении - использование его в синтезе аминокислот. Сульфат-ион включается в образующуюся молекулу цистеина, цистеин в свою очередь преобразуется в цистеиновую кислоту или цистин, идет на синтез метионина и другие реакции [Мецлер, 1980; Sulfur..., 2008]. Анализ аминокислотного состава спиртовых экстрактов хвои показал многообразие динамики аминокислот в зависимости от фазы вегетации, времени суток и времени, прошедшего после воздействия стрессового фактора (опрыскивания). Значимое повышение содержания цистина отмечали в первой половине вегетации, на второй год эксперимента в конце вегетационного периода повысилось содержание глутатиона. Также отмечено увеличение уже в первые часы после опрыскивания содержания пролина - аминокислоты, выполняющей защитные функции при различных стрессах. В дальнейшем содержание пролина по сравнению с контролем было выше в первой половине вегетации и ниже во второй, что согласуется с колебанием предшественника пролина - глутаминовой кислоты. Часть поступающей через поверхность хвои серы включалась в синтез белков, что косвенно подтверждалось увеличением биомассы хвоинки.

Об отсутствии значимого повреждения ассимиляционного аппарата свидетельствует содержание пигментов: при небольшом снижении содержания хлорофиллов а, b и каротиноидов отношение хлорофилла а к хлорофиллу b в опытных вариантах у хвои текущего года сокращалось незначительно, а у хвои предыдущего года повышалось, что, по литературным данным, говорит об устойчивости растения к загрязнению [Павлов, 2005]. Некроз и раннего пожелтения хвои в опыте также не отмечено.

У большинства растений, произрастающих на загрязненных территориях, увеличивается количество устьиц на единицу поверхности листа [Луговской, 2004; Неверова, 2009]. Нами установлено, что у хвои опытных деревьев, образованной на третий год эксперимента (при низких значениях рН), число строк и общее число устьиц в 1 мм длины хвоинки по сравнению с контролем снизилось, причем на выпуклой стороне хвоинки, сильнее, чем на плоской стороне. При снятии антропогенной нагрузки наблюдалась обратная картина. При этом по числу устьиц на 1 мм<sup>2</sup> опытные и контрольные варианты почти не отличались, что объясняется разной шириной хвоинок в опыте и контроле.

При воздействии на сосну сернистого газа хвоя образует на своей поверхности тем более толстый слой воска, чем выше концентрация или продолжительнее действие газа на нее [Лорсанова, 2009] Нами было отмечено, что число проросших спор на лепестках, сделанных с поверхности хвои опытных деревьев меньше чем у контрольных.

Об изменении метаболизма опытных деревьев косвенно говорит следующий факт. Начало эксперимента совпало с массовой вспышкой численности тли и осевые побеги текущего года у самосева сосны были покрыты этими насекомыми. Спустя две недели после первого опрыскивания тля с опытных деревьев полностью исчезла, хотя ее коли-

чество на контрольных особях сосны оставалось велико.

В заключении можно сказать следующее. Редкое опрыскивание молодых деревьев сосны слабыми растворами серной кислоты не вызывает значимого угнетения метаболизма, и даже может оказывать стимулирующий эффект при рН раствора 3,2. Оно запускает индукционную устойчивость, снижает патогенную нагрузку. При более низких значениях рН внешние нарушения на первых этапах загрязнения могут не проявляться, однако в ксилеме ствола фиксируется рост числа камбиальных аномалий. Также часть дифференцирующихся трахеид начинает образовывать нерастворимые и слаборастворимые соединения, остающиеся в полости трахеид после перехода клеток в зону зрелой ксилемы. Это в конечном итоге должно сказаться на скорости транспортного потока в заболони и на качестве древесины в целом. Однократное опрыскивание раствором серной кислоты с рН 3,2 можно апробировать в питомниках лесных культур с целью повышения устойчивости саженцев накануне ожидающейся вспышки численности вредителей, так как серная кислота в такой концентрации не наносит значимого вреда растениям и, в отличие от фунгицидов и инсектицидов, способна полностью усваиваться биотой.

#### Литература

Бухарина И.Л., Поварницина Т.М., Ведерников К.Е. Эколого-биологические особенности древесных растений в урбанизированной среде. – Ижевск: ФГОУ ВПО Ижевская ГСХА, 2007. – 216 с.

Житкова Е.А. Структурно-функциональные особенности проводящей системы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), подверженной воздействию токсичных поллютантов: Дис...канд. биол. наук. – Петрозаводск, 2003. – 227 с.

Лорсанова Я. Э. Растения-индикаторы состояния окружающей среды (на примере воздействия атмосферного воздуха) // Вопросы современной науки и практики. Ун-т им. В.И. Вернадского, 2009. - № 3. - С. 162-166.

Луговской А.М. Мониторинг природной среды методом индикации сосны обыкновенной в условиях техногенеза Русской равнины: Дис...докт. геогр. наук. - Волгоград, 2004. – 398 с.

Мецлер Д. Биохимия. Химические реакции в живой клетке. Том 3. - Издательство: Мир, 1980. – 488 с.

Неверова О.А. Применения фитоиндикации в оценке загрязнения окружающей среды // Биосфера, 2009. - Т. 1, № 1. – С. 82-92.

Павлов И.Н. Древесные растения в условиях техногенного загрязнения. – Улан-Удэ: БНЦ СО РАН, 2005. – 360 с.

Половникова М. Г., Воскресенская О. Л. Активность компонентов антиоксидантной защиты и полифенолоксидазы у газонных растений в онтогенезе в условиях городской среды // Физиология растений, 2008. – Т. 55, № 5. – С. 777-785.

Сухарева Т.А. Химический состав и морфометрические характеристики хвои ели сибирской в условиях воздушного промышленного загрязнения: Дис...канд. биол. наук. – Апатиты, 2004. - 228 с.

Теребова Е.Н., Сазонова Т.А., Галибина Н.А. Состояние хвои *Pinus sylvestris* (Pinaceae) в условиях промышленного загрязнения (Костомукшский горно-обогатительный комбинат, Республика Карелия) // Растительные ресурсы, 2008. - Т. 44, № 2. - С. 56-68. *Pinus sylvestris*

Sulfur Metabolism in Phototrophic Organisms. Part I: Sulfate Activation and Reduction, Biosynthesis of Sulfur Containing Amino Acids // Advances in Photosynthesis and Respiration, Vol. 27 / Edited by R. Hell, C. Dahl, D. Knaff, T. Leustek. - Springer, 2008. - P. 1-148.

Zobel A., Nighswander J. Accumulation of phenolic compounds in the necrotic areas of

Austrian and red pine needles after spraying with sulphuric acid: a possible bioindicator of air pollution // *New Phytologist*, 1991. – Vol. 117, Is. 4, - P. 565–574.

## **ВЛИЯНИЕ ЗАСОЛЕНИЯ НА РОСТ И АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ ЛИСТЬЕВ И КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ**

С.Д. Атабаева, А. Нурмаханова, А. Ахметова, С.С. Айдосова, А. Жардамалиева, С.С. Кенжебаева, Р.А. Алыбаева, С.Ш. Асрандина, Ж. Пахратдинова

КазНУ им. аль-Фараби, Алматы, sauleat@yandex.ru

По данным Агентства Республики Казахстан по управлению земельными ресурсами засоленные и солонцовые земли составляют 94,9 млн. га – 42,1%. Основную угрозу для водных ресурсов на юге и юго-востоке страны составляет орошаемое земледелие. Сложившаяся экологическая ситуация в орошаемом земледелии снизила валовый сбор растениеводческой продукции 1,6-1,8 раза [<http://www.eco.gov.kz>]. В связи с этим, для успешного развития земледелия в неблагоприятных районах целесообразно выращивать культуры и сорта сельскохозяйственных культур, которые устойчивы к воздействию данных факторов. В настоящей работе был проведен скрининг сортов пшеницы на устойчивость к действию NaCl по ростовым показателям и изучены анатомические особенности листьев и корней пшеницы в условиях засоления.

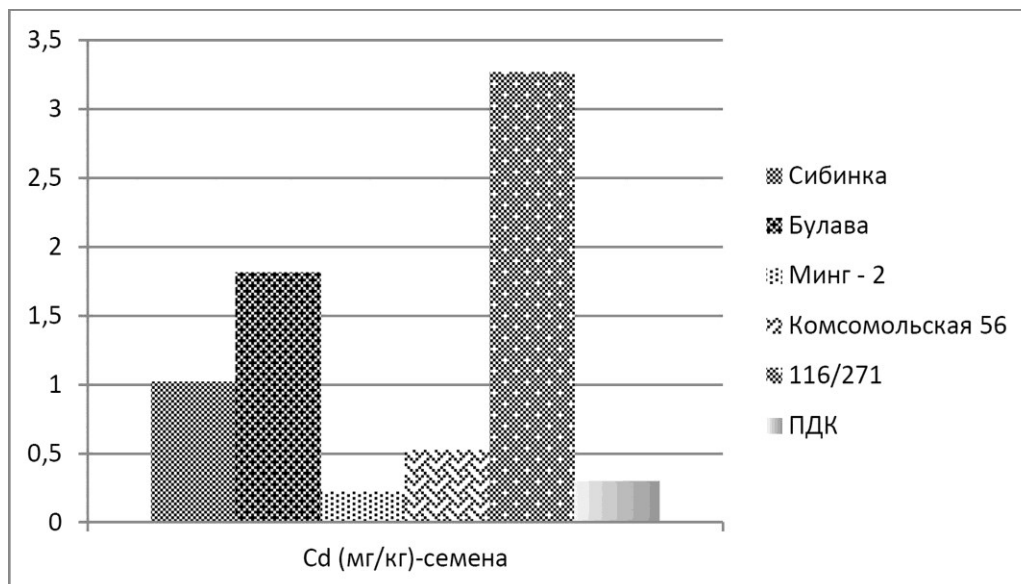
Растения выращивали 7 дней в растворах, содержащих различные концентрации NaCl: контроль, 50 mM NaCl; 100 mM NaCl. По линейному росту надземных органов и корней сорта можно расположить следующим образом: надземные органы - Казахстанская ранняя (85%) > Казахстанская-3 (81%) > Кайыр (69%) > Шагала (53%) > Мельтурн (28%); корни - Казахстанская ранняя (94%) > Казахстанская-3 (88%) = Кайыр (88%) > Мельтурн (81%) = Шагала (81%). По накоплению биомассы сорта располагаются в следующем порядке: надземные органы - Казахстанская ранняя (88%) > Казахстанская -3 (75%) = Кайыр (75%) > Шагала (56%) > Мельтурн (50%); корни - Кайыр (90%) > Мельтурн (83%) > Казахстанская ранняя (80%) > Казахстанская -3 (75%) > Шагала (66%) (рис. 1). Следует отметить, что рост корней и накопление биомассы корнями подавлялись в меньшей степени в условиях засоления по сравнению с надземными органами. Наибольшую устойчивость к засолению, судя по биомассе надземных органов, показали сорта Казахстанская ранняя и Казахстанская-3, наименьшую устойчивость – сорт Шагала и Мельтурн.

Анатомические особенности растений в условиях действия засоления и тяжелых металлов. Гликофиты, также как и галофиты, в условиях засоления приспособляются к солевому стрессу изменением физиологических, биохимических и анатомических параметров [Saigam et al., 2004]. Исследование морфометрических показателей листовой пластинки показало, что толщина нижнего и верхнего эпидермиса при действии NaCl у некоторых видов снижается по сравнению с контролем. При действии 100 mM NaCl в наибольшей степени уменьшалась толщина нижнего и верхнего эпидермиса у сорта Мельтурн, в наименьшей степени – Казахстанская-3, Шагала и Кайыр. По снижению этих показателей при 100 mM NaCl сорта располагаются следующим образом (в % к контролю): по толщине нижнего эпидермиса - Шагала (96%) > Казахстанская-3 (94%) > Казахстанская ранняя (89%) > Кайыр (87%) > Мельтурн (49%); по толщине верхнего эпидермиса - Казахстанская-3 (96%) > Кайыр (90%) > Шагала (84%) > Казахстанская ранняя (79%) > Мельтурн (77%).

При действии засоления уменьшался диаметр проводящих пучков листовой пластинки. Размеры проводящих пучков напрямую зависят от диаметров ксилемных сосу-

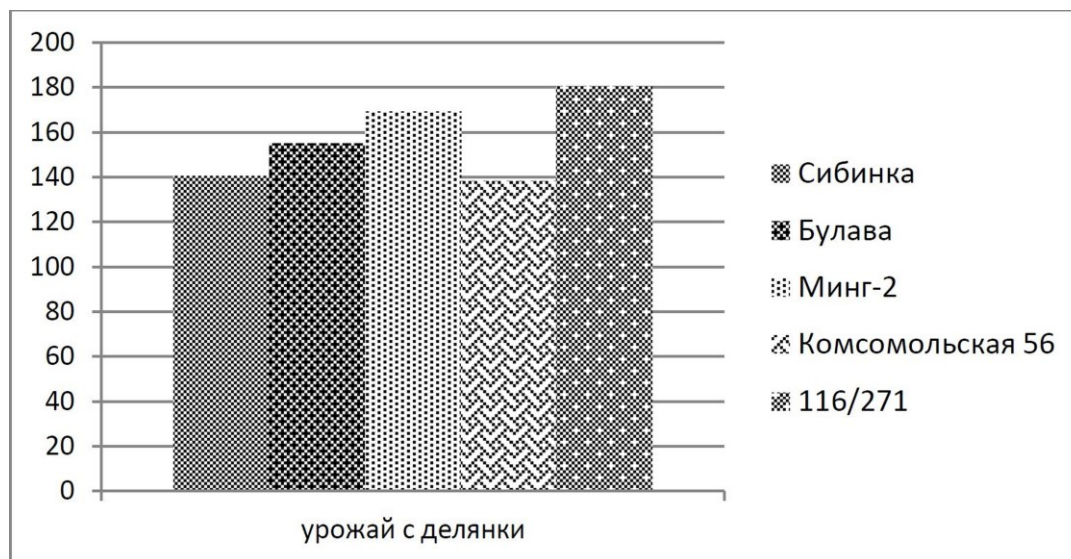


дов. Поэтому сокращение диаметра проводящих пучков напрямую связано с уменьшением площади ксилемных сосудов, которые в свою очередь, как проводящие элементы, четко реагируют на проведение различных веществ изменением в диаметре, в данном случае уменьшением. Соответственно, концентрация солей натрия в таком объеме тор-мозит проведение воды с растворенными в ней веществами [Ortega et al., 2006].



**Рис. 1 – Влияние NaCl на биомассу надземных органов 7-дневных проростков пшеницы.**

Диаметр проводящих пучков при действии 100 мМ NaCl уменьшался в следующей последовательности: Кайыр (100%)=Казахстанская-3 (84%) = Шагала (84%) > Казахстанская ранняя (80%) > Мельтурн (53%) (рис. 2).



**Рис. 2 - Влияние NaCl на диаметр проводящих пучков пшеницы.**

Неустойчивый по ростовым параметрам сорт Мельтурн отличался низкими показателями по толщине эпидермиса и диаметра проводящих пучков, но другой неустойчивый сорт Шагала имел более стабильные параметры. Из этого следует, что прямой корреляции между устойчивостью сортов к данному стрессору по ростовым параметрам и показателями анатомического строения листьев не обнаружено. Изменения на

тканевом уровне не нашли отражения на организменном уровне.

При исследовании морфометрических показателей корней пшеницы с увеличением концентрации NaCl обнаружено уменьшение толщины экзодермы и эндодермы, а также диаметра центрального цилиндра. По изменению толщины экзодермы и эндодермы при действии 100 мМ NaCl сорта располагаются относительно контроля в следующем порядке: по толщине экзодермы – Шагала (86%) > Кайыр (84%) > Казахстанская ранняя (83%) > Мельтурн (77%) > Казахстанская-3 (63%); по толщине эндодермы - Казахстанская ранняя (97%) > Кайыр (93%) = Мельтурн (93%) > Шагала (76%) > Казахстанская-3 (61%).

Отношение толщины экзодермы к толщине эндодермы является важным показателем устойчивости растений. Чем выше эта величина, тем выше устойчивость растений, считают авторы. Утолщение экзодермы является показателем адаптивных реакций против стрессоров [Gomes et al., 2011; Singh and Prasad, 2009]. Отношение толщины экзодермы к толщине эндодермы при действии 100 мМ NaCl уменьшается в следующем порядке (в % относительно контроля): Шагала (110%) > Казахстанская-3 (104%) > Кайыр (91%) > Казахстанская ранняя (85%) > Мельтурн (83%). Диаметр центрального цилиндра уменьшался у некоторых сортов по сравнению с контролем. По изменению диаметра центрального цилиндра при действии 100 мМ NaCl сорта располагаются следующим образом: Казахстанская-3 (91%) > Казахстанская ранняя (84%) = Шагала (84%) > Мельтурн (75%) > Кайыр (64%). При действии 100 мМ NaCl наибольшие изменения в диаметре центрального цилиндра произошли у сорта Кайыр, наименьшие – у сорта Казахстанская-3. Сорт Казахстанская-3 отличался от других тем, что у него в наибольшей степени снижались толщина экзодермы и эндодермы, но диаметр центрального цилиндра не претерпел сильных изменений при действии засоления. У данного вида наибольший показатель отношения экзодермы к эндодерме, что указывает на высокую активность адаптивных реакций растений данного сорта к засолению. По влиянию засоления накопление биомассы надземными органами данный сорт был самым устойчивым по сравнению с другими сортами. Неустойчивый действию NaCl сорт Шагала показал средние результаты по изменению анатомических показателей корней. Отсюда можно заключить, что у наших сортов в данных условиях проведения эксперимента изменение анатомических показателей напрямую не коррелируют с устойчивостью видов. Это указывает на то, что устойчивость растений является результатом сложного комплекса различных биохимических, физиологических и анатомических адаптивных реакций растений на стресс.

#### Литература

Gomes M. P., Lanza de Sá e Melo Marques T.C.L., Mariana de Oliveira, G. Nogueira, Castro E. M., De Soares Â.M. Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*// Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.), - 2011. - Vol 68, N5. - Pp.566-573.

Ortega L, Fry S.C., Taleisnik E. (2006). Why are *Chloris gayana* leaves shorter in salt-affected plants? Analyses in the elongation zone. *Journal of experimental Botany* 57: 3945-3952.

Sairam R.K., Tyagy A. Physiology and Molecular biology of salinity stress tolerance in plants // Current Science.- 2004. - Vol. 86, N3.- Pp. 407-421.

Singh A., Prasad R. Salt stress effect growth and cell wall bound enzymes in *Arachis hypogaea* L. seedlings // International journal of integrity Biology - 2009. - Vol.7, N2. - Pp. 117-123.

## ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ХВОЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО СТРЕССА

Л.В. Афанасьева

Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, afanl@mail.ru

В современный период антропогенная трансформация природной среды представляет собой серьезную экологическую проблему, проявление которой особенно глубоко в крупных промышленных городах, где сосредоточены разнопрофильные предприятия и большое количество автотранспорта. В ходе производственно-бытовой деятельности горожан образуются техногенные потоки, характеризующиеся высокими концентрациями химических элементов, преимущественно тяжелых металлов, обладающих высокой миграционной способностью и возможностью биоаккумуляции.

Среди компонентов городской среды наиболее существенным фактором нейтрализации загрязнения атмосферного воздуха является растительность, особенно древесные растения. Выступая как своеобразный живой фильтр, они принимают на себя значительную эмиссионную нагрузку и во многом определяют последующую циркуляцию элементов-поллютантов в урбозкосистеме. Кроме того, древесные растения очищают, увлажняют и обогащают кислородом атмосферу городов, изменяют радиационный и температурный режимы, снижают силу ветра и шума. Однако, находясь под постоянным стрессовым воздействием, растения вынуждены адаптироваться к нему с помощью физиолого-биохимических и анатомо-морфологических перестроек.

В большинстве работ для биохимической индикации состояния древостоев используются продукты основного обмена [Биохимические..., 1997]. Только в последние десятилетия стали появляться сообщения о возможности привлечения вторичных метаболитов в качестве показателей состояния растений в условиях стресса [Фенольные..., 2005]. Прежде всего, это касается фенольных веществ – группы соединений, содержащих один или несколько фенольных остатков и имеющих различное число оксигрупп и заместителей. Установлено, что усиление синтеза фенолов в растениях является неспецифической реакцией на стресс – их содержание увеличивается при повышенных или пониженных температурах воздуха, дефиците элементов минерального питания, разного рода повреждениях. Гораздо меньше информации о количественных изменениях этой группы соединений в условиях атмосферного промышленного загрязнения [Pasqualini et al., 2003].

Цель данной работы – определение содержания фенольных соединений в хвое сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и выявление зависимости их концентрации от уровня загрязнения деревьев в условиях техногенного воздействия разной степени интенсивности.

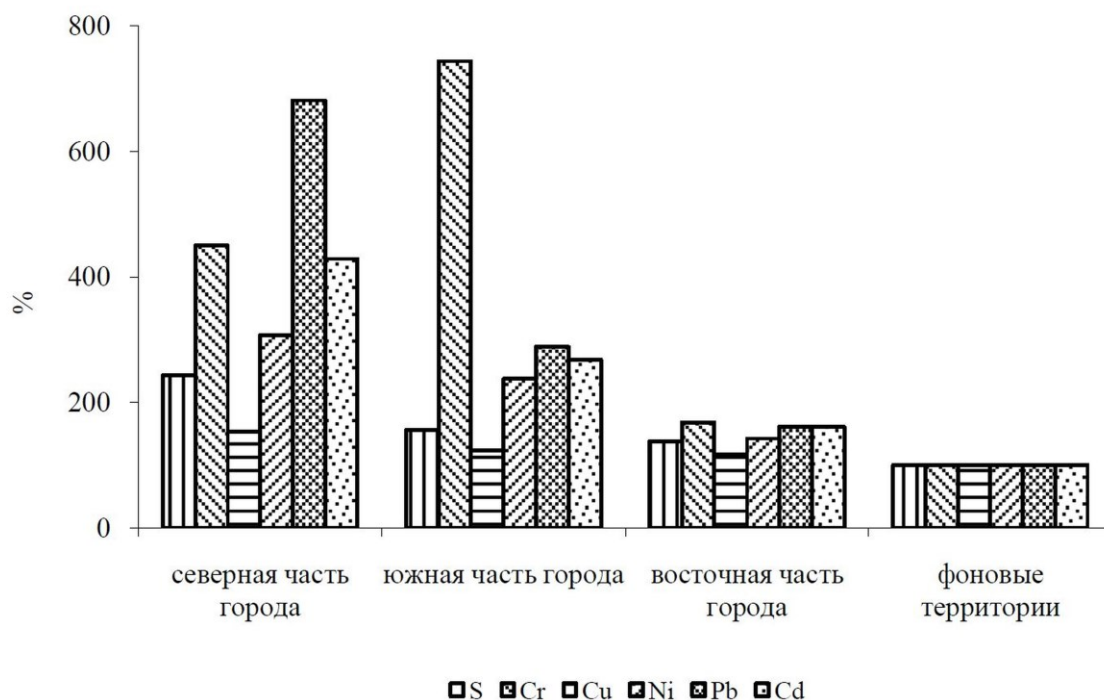
Исследования проводились на территории г. Улан-Удэ – крупного промышленного центра Республики Бурятия, входящего в число городов России с высоким уровнем загрязнения атмосферного воздуха [Госдоклад..., 2010]. Основными источниками загрязнения являются крупные теплоэлектростанции, промышленные предприятия – локомотивовагоноремонтный завод (ЛВРЗ), авиазавод, завод металлических конструкций и др., мелкие котельные и автотранспорт. Ежегодный выброс загрязняющих веществ от стационарных источников и автотранспорта достигает 65 тыс. т.

Пробные площади (ПП) для исследований были заложены в парковых зонах, расположенных в разных районах города. Объектом изучения служили деревья сосны обыкновенной. Эта порода широко распространена на территории города и в его окрестностях, а также характеризуется высокой чувствительностью к атмосферным поллютантам. Обследование древостоев осуществлялось в соответствии с [Методика..., 1987]. Уровень загрязнения деревьев оценивали по концентрации элементов-токсикантов в хвое. В качестве фоновых исследовались сосновые древостои, произрас-

тающие на удалении 60 км от города. Для определения элементного химического состава хвои и содержания в ней фенолов отбирали побеги второго года жизни.

В лабораторных условиях в сухих образцах хвои определяли содержание химических элементов по общепринятым методикам [Физико-химические..., 1987]. Экстракцию фенольных соединений из хвои осуществляли 70% этиловым спиртом, общее их содержание определяли спектрофотометрически с реактивом Фолина-Чокалтеу, флавоноиды – с хлоридом алюминия, катехин – с ванилиновым реактивом [Методы..., 1987]. Расчет общего содержания фенолов проводили по калибровочным графикам, построенным для галловой кислоты, флавоноидов – для рутина.

Проведенные исследования показали, что на ПП, расположенных в северной части города, деревья характеризуются высоким уровнем загрязнения. В хвое сосны содержание серы увеличивается в 2,4 раз по сравнению с фоновыми значениями, свинца в 6,8 раз, кадмия, хрома, железа в 4,3 раза (рис.). Исследование сосны в южной части города выявило средний уровень загрязнения деревьев: содержание серы увеличено в 1,6 раза в сравнении с фоновым значением, свинца – 2,9 раз, кадмия – 2,7 раза. Отличительной особенностью деревьев в этой части города является высокий уровень накопления хрома – в 7,4 раза выше фоновых концентраций. В восточной части города содержание тяжелых металлов в хвое деревьев заметно ниже: их концентрации не превышают фоновые значения более чем в 1,3-1,6 раз – деревья характеризуются низким уровнем загрязнения.



**Рис. Накопление серы и тяжелых металлов в хвое сосны обыкновенной в парках г. Улан-Удэ.**

Определение общего содержания фенолов в хвое сосны позволило выявить тенденцию к увеличению их концентрации с ростом уровня загрязнения деревьев. Так, в северной части города отмечено увеличение фенолов в хвое в среднем на 24% (табл. 1), в южной части – на 11% по сравнению с фоном. В хвое сосен, произрастающих в восточной части города содержание фенолов в хвое соответствовало фоновым значениям.

Более выраженные количественные изменения установлены для отдельных групп

фенольных соединений, в частности для флавоноидов. Обнаружено, что с ростом уровня загрязнения деревьев в хвое увеличивается содержание рутина на 16-38%, катехина на 18-41%. Известно, что флавоноиды (особенно катехин), являясь сильными антиоксидантами, уменьшают количество свободных радикалов в клетках, препятствуя тем самым развитию окислительного стресса, возникающего при воздействии поллютантов.

**Таблица 1**

**Содержание фенольных соединений (мг/г сухого вещества) в хвое сосны в парках г. Улан-Удэ**

Показатели	Части города			Фоновые территории
	северная	южная	восточная	
Общее содержание фенолов	37,8±0,2	33,9±0,3	29,9±0,2	30,6±0,2
Рутин	7,7±0,3	6,5±0,2	6,2±0,1	5,6±0,2
Катехин	8,5±0,1	7,1±0,2	5,8±0,4	6,0±0,2

Результаты корреляционного анализа также указывают на то, что при увеличении техногенной нагрузки, вызывающей повышение в хвое сосны концентрации элементов, входящих в состав эмиссий, уровень содержания фенолов возрастает (табл. 2).

**Таблица 2**

**Коэффициенты корреляции между содержанием фенолов и элементов-загрязнителей в хвое сосны (n=12, P=0,05)**

Показатели	S	Cr	Cu	Ni	Pb	Cd	Fe
Общее содержание фенолов	0,79	0,62	0,65	0,75	0,93	0,84	0,92
Рутин	0,98	0,51	0,98	0,83	0,92	0,92	0,96
Катехин	0,88	0,63	0,89	0,85	0,95	0,94	0,83

Таким образом, на основании полученных данных о содержании фенольных соединений в хвое сосны можно заключить, что в условиях техногенного стресса наиболее информативными показателями являются отдельные группы фенольных соединений в сравнении с их общим содержанием. При этом активное накопление флавоноидов в клетках ассимиляционных органов может повысить эффективность антиоксидантной системы в процессах нейтрализации продуктов окислительного стресса и способствовать повышению устойчивости растений к действию токсикантов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 12-05-00020).*

#### Литература

- Биохимические индикаторы стрессового состояния древесных растений / Судакова Н.Е. и др. – Новосибирск: Наука, 1997. – 176 с.
- Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды в Российской Федерации в 2009 г.». – М., 2010. – 523 с.
- Методы биохимического исследования растений. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
- Методика организации и проведения работ по мониторингу лесов СССР. – М., 1987. – 45 с.
- Фенольные соединения хвойных деревьев в условиях стресса / Фуксман И.Л. и др.

// Лесоведение. – 2005. – № 3. – с. 4-10.

Физико-химические методы при определении макро- и микроэлементов в объектах окружающей среды / Пройдакова О.А. и др. // Геохимия техногенеза. – Новосибирск: Наука, 1986. – С. 124–130.

Phenolic compounds content in *Pinus halepensis* Mill. Needles: a bioindicator of air pollution / Pasqualini V. et all. // Chemosphere 2003. – 52. – p. 239-248.

## **ИНДУЦИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ PR-БЕЛКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ *BIPOLARIS SOROKINIANA***

А.Р. Ахатова, Е.А. Заикина, Р.И. Касимова, Л.Г. Яруллина

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, akhatova.a@yandex.ru

Одной из универсальных защитных реакций растений при воздействии на них различных патогенных микроорганизмов является синтез белков с антимикробными свойствами, большая часть которых объединена в группу патоген-индуцируемых (PR) белков [Малиновский, 2009]. К патоген-индуцируемым белкам, которые характеризуются широким спектром физиологического действия, относятся пероксидаза (PR-9) и ингибиторы протеиназ (PR-6). Синтез и секреция в растительные ткани протеолитических ферментов в наибольшей степени свойственна грибам с некротрофным типом питания. Один из представителей грибов такого типа – гриб *B. sorokiniana*, развивается на подземных и надземных органах растений (первичные и вторичные корни, эпикотиль, основание стебля), однако он способен поражать листья и семена [Чулкина, 1985]. Поэтому индукция активности ингибиторов протеиназ, наряду с индукцией активности пероксидазы, является важной составляющей защитных реакций пшеницы против *B. sorokiniana*. В литературе имеются данные, свидетельствующие о возможности регуляции активности данных белков путем воздействия на растения соединениями различной природы, в том числе сигнальными молекулами, такими как салициловая (СК) и жасмоновая (ЖК) кислоты [Бурханова, 2006; Яруллина, Ибрагимов, 2006]. Индуцирование экспрессии генов патоген-индуцируемых белков растительного организма открывает принципиально новые подходы к поиску эффективных и экологически безопасных методов защиты культурных растений от патогенных микроорганизмов.

В данной работе исследовали воздействие сигнальных молекул (СК, ЖК) на активность анионной пероксидазы и ингибиторов протеиназ, а также на экспрессию кодирующих их генов в растениях пшеницы *T. aestivum* L. сорта Жница при инфицировании *B. sorokiniana*. Отрезки листьев 7-суточных проростков пшеницы инокулировали суспензией спор *B. sorokiniana* из расчета  $10^6$  спор/мл. СК и ЖК в концентрациях 0,05мМ и  $10^{-7}$ М использовали для замачивания семян пшеницы. Через 12, 24, 48 ч после инфицирования анализировали активность защитных белков и экспрессию кодирующих их генов.

РНК из растений выделяли фенольно-детергентным методом. Для получения кДНК на основе мРНК изучаемых образцов проводили реакцию обратной транскрипции с использованием M-MuLV обратной транскриптазы согласно протоколу фирмы-поставщика. Полимеразно-цепную реакцию (ОТ-ПЦР) проводили в амплификаторе типа ТП4-ПЦР-01-«Герцик». После амплификации фрагменты ДНК фракционировали методом электрофореза в 1-2% агарозном геле или 7% ПААГ в электрофоретической камере S2 («Хеликон», Россия). В качестве положительного контроля использовали ПЦР гена, кодирующего конститутивно экспрессирующийся тубулин. С помощью програм-

мы «Primer Select» (DNAStar) были подобраны высокоспецифичные праймеры к гену пероксидазы (Peroxibase TC 151917) и ингибитора протеиназ (EU 293132.1), фланкирующие фрагмент ДНК размером 157 и 106 п.н. соответственно. Экспериментальным путем были подобраны условия проведения ПЦР.

В процессе наблюдения за ростом гриба *B. sorokiniana* на эпидермисе листьев было выявлено, что предобработка растений пшеницы сигнальными молекулами снижает степень роста и развития возбудителя корневой гнили в растительных тканях. Так в контроле площадь пораженных участков листьев составила 40%, у растений, предобработанных СК и ЖК - 31% и 24 %, соответственно.

Также проведенное исследование показало, что предобработка растений СК повышала активность пероксидазы в среднем на 29%, предобработка ЖК – на 43%, причем в варианте опыта с использованием СК индукция активности фермента была ярко выражена через 24 ч от начала опыта, тогда как в варианте опыта с использованием ЖК – через 48 ч. Следует отметить, что в варианте с обработкой ЖК повышение активности ингибиторов протеиназ наблюдалось уже через 24 ч после инокуляции. ЖК и СК оказывали индуцирующее действие, как на активность исследуемых защитных белков, так и на экспрессию кодирующих их генов. При этом, более выраженный индуцирующий эффект на экспрессию генов пероксидазы и ингибитора протеиназ в инфицированных тканях оказывала ЖК по сравнению с СК. Полученные данные свидетельствуют о чувствительности генов пероксидазы и ингибитора протеиназ к сигнальным молекулам, а также открывают перспективы повышения устойчивости растений путем усиления их экспрессии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы проект ГК № 16.740.11.0061, РФФИ\_поволжье\_а № 11-04-97037.*

#### Литература

Бурханова Г.Ф. Анионные пероксидазы как компонент устойчивости растений пшеницы к фитопатогенным грибам: автореф. дис. на соиск. учен. степ. к-та биол. наук. Уфа, 2006. 21 с.

Малиновский В.И. PR-белки и фитовирусы // Усп. соврем. биологии. 2009. Т. 129, № 3. С. 1–9.

Чулкина В.А. Корневые гнили хлебных злаков. Новосибирск: Наука, 1985. 189 с.

Яруллина Л.Г., Ибрагимов Р.И. Клеточные механизмы формирования устойчивости растений к грибным патогенам. Уфа: Изд. Гилем, 2006. 232 с.

### **ВЛИЯНИЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ КЛУБНЕЙ И НАКОПЛЕНИЕ В НИХ УГЛЕВОДОВ ИНУЛИНОВОЙ ПРИРОДЫ У РАЗНЫХ СОРТОВ ТОПИНАМБУРА В УСЛОВИЯХ СРЕДНЕГО УРАЛА**

Р.И. Багаутдинова, В.П. Рымарь, О.В. Халатян, Г.П. Федосеева

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, ботанический сад, Екатеринбург, botsadurfu@mail.ru

Среди многообразия нетрадиционных растений топинамбур (*Helianthus tuberosus* L.) является одним из самых перспективных. Это многолетнее клубненозное растение, которое может расти без повторной посадки на одном месте восемь и более лет. От других овощных культур топинамбур отличается высоким содержанием в клубнях углеводов инулиновой природы, чем в значительной степени обусловлены его лечебно-

профилактические особенности. Это мощная сахаронакопительная культура многоцелевого применения. Клубни и надземная масса топинамбура могут использоваться в качестве кормовых добавок для сельскохозяйственных животных и служить ценным сырьем для кулинарии, пищевой и фармацевтической промышленности, а также для различных технических целей.

Известно, что наиболее важными факторами, лимитирующим продукционный процесс, являются недостаточная влагообеспеченность посадок и пониженная от средних показателей температура воздуха. Многолетние исследования, проведенные нами на топинамбуре показали, что при благоприятных метеорологических условиях на Среднем Урале эта культура формирует высокую биологическую продуктивность. В данной работе приведены результаты наблюдений за изменением показателей продуктивности у разных сортов топинамбура в 2009 и 2012 годы, контрастные по влагообеспечению посадок (табл. 1).

**Таблица 1**  
**Метеоусловия вегетационных периодов 2009 и 2012 гг. г. Екатеринбург.**

Месяц	2009 г							2012 г						
	Температура, °С			Осадки, мм				Температура, °С			Осадки, мм			
	декады			декады			Сумма за месяц	декады			декады			Сумма за месяц
	1	2	3	1	2	3		1	2	3	1	2	3	
Июнь	19	20	14	4	10	20	34	19	20	21	52	6	1	59
Июль	14	19	17	42	16	23	81	23	25	19	1	13	18	32
Август	14	16	18	99	14	34	147	23	17	14	0	9	39	48
Сентябрь	16	12	9	1	5	11	17	12	10	11	18	34	4	56
Сумма осадков, мм	279							195						

Из таблицы 1 следует, что метеорологические условия в годы наблюдений существенно отличались по количеству осадков и в меньшей степени по температуре воздуха. Так, сумма осадков за исследуемый период вегетации составила в 2009 году 279 мм, а в 2012 году – 195 мм.

В условиях Среднего Урала завязывание клубней топинамбура происходит в конце июля – начале августа. По данным метеорологической службы Екатеринбурга [Погода и климат] среднемноголетняя норма осадков в июле равна 90 мм, а в 2012 году выпало 38 мм, что составляет 42% от нормы. В первую декаду августа 2012 г. осадков совсем не было в отличие от 2009 г. (99 мм) (табл. 1). Такое низкое влагообеспечение послужило причиной торможения завязывания клубней, то есть уменьшения их числа на растении и существенно снижало их массу, измеренную в конце сентября (табл. 2).

Так, у разных сортов конечная масса клубней растения была в 1,6-4,3 раза меньше в сравнении с 2009 годом. При этом более существенно подавлялось завязывание клубней, число которых на куст в 2012 году было в 2,6 – 6,2 раза меньше, чем в 2009 году (табл. 2).

Необходимо отметить, что реакция изученных сортов на недостаточное водообеспечение существенно различалась (табл. 2). Наибольшую устойчивость проявил сорт Подмосковный, у которого масса клубней на куст была максимальной в годы наблюдений (974 г и 614 г соответственно) и ее нарастание подавлялось неблагоприятными условиями 2012 года лишь в 1,6 раза. Наименьший урожай клубней при низком водоснабжении был сформирован у сорта Интерес 21 (533 г и 122 г), у которого образова-



ние числа клубней (31 шт. и 5 шт.) было подавлено в 6,2 раза, а их масса в 4,3 раза.

**Таблица 2**

**Влияние метеоусловий разных лет исследований  
на продуктивность сортов топинамбура**

№ п/п	Сорт	Масса клубней, г/куст		Число клубней, шт./куст	
		2009 г.	2012 г.	2009 г.	2012 г.
1	Подмосковный	974±77,9	614±49,1	24±2,6	9±1,1
2	Выльгортский	911±72,9	258±30,9	52±4,6	16±2,0
3	Урожайный	833±74,5	336±10,4	42±4,1	15±1,6
4	Интерес 21	533±63,8	122±14,6	31±3,4	5±0,7
5	Диетический	553±66,3	190±20,9	25±3,0	12±1,1
6	Находка	545±54,5	297±26,7	29±2,7	12±0,9
7	Киевский бе- лый	543±59,7	289±23,1	48±3,8	10±1,2

Как указывалось выше, основную массу сухого вещества клубней топинамбура составляет фруктоза разной степени полимеризации. Мы провели измерения количества олиго- и полифруктанов у сортов топинамбура при разном водообеспечении почвы. По методике [Багаутдинова, 2000] выделяли две фракции: низкомолекулярные фруктаны, в том числе фруктоза и высокомолекулярные, в том числе инулин. В результате исследований выявлено, что в отличие от формирования числа и массы клубней накопление углеводов инулиновой природы в них незначительно отличалось в разные по влагообеспеченности годы: сумма двух фракций составила 36,7% - 48,9% в 2009 году и 42,6 – 56,6% в 2012 году (табл. 3).

**Таблица 3**

**Содержание олигофруктанов низкой (н/м) и высокой (в/м) степени  
полимеризации в разные по метеоусловиям годы, % на сухую массу клубней.**

№ п/п	Сорт	2009 г.			2012 г.		
		н/м, %	в/м, %	сумма, %	н/м, %	в/м, %	сумма, %
1	Подмосковный	12,8	32,4	45,2	12,4	30,4	42,8
2	Выльгортский	13,0	23,7	36,7	15,0	32,1	47,1
3	Урожайный	20,6	24,1	44,7	22,0	21,9	43,2
4	Интерес 21	18,8	27,7	46,5	10,6	32,0	42,6
5	Диетический	16,8	27,9	44,7	16,0	33,8	49,8
6	Находка	24,8	24,1	48,9	29,6	27,0	56,6
7	Киевский белый	14,0	38,0	44,0	16,0	28,1	44,1

Таким образом, недостаточное водообеспечение растений топинамбура в период формирования клубней существенно тормозило завязывание и увеличение их массы, но не влияло на интенсивность синтеза фруктозы и ее полимеризацию до олиго- и полифруктанов, в том числе инулина.

**Литература**

Багаутдинова Р.И., Федосеева Г.П. Продуктивность и фракционный состав углеводного комплекса разных по скороспелости сортов топинамбура // Сельскохозяйственная биология, 2000. - № 1. – С. 55-63.

Погода и климат [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://pogoda.ru.net/>

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛИСТОВОГО АППАРАТА КЕДРА СИБИРСКОГО В ВЫСОТНЫХ И ЛЕСОБОЛОТНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ

О.Г. Бендер, А.П. Зотикова, С.Н. Велисевич

Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН, Томск, obender65@mail.ru

Обширный ареал, занимаемый кедром сибирским, объясняется его высокой экологической пластичностью. Кедр сибирский является одним из немногочисленных представителей древесных растений горных и заболоченных экосистем в таежной зоне Западной Сибири. В горах этот вид испытывает воздействие высокой инсоляции, низких температур, жесткого ультрафиолета, повышенных доз озона. В болотных экосистемах на развитие кедра существенное и негативное влияние оказывают обилие влаги, недостаток кислорода, низкая теплопроводность, бедность элементами минерального питания, повышенная кислотность субстрата. Специфика распространения кедра сибирского предполагает различные механизмы адаптации данного вида на уровне анатомо-морфологических, функциональных и биохимических особенностей. Целью настоящей работы явилось изучение структурных особенностей, и фотосинтетических параметров двухлетней хвои ценопопуляций сосны кедровой сибирской (*Pinus sibirica Du Tour*) вдоль высотного и лесоболотного экологических профилей.

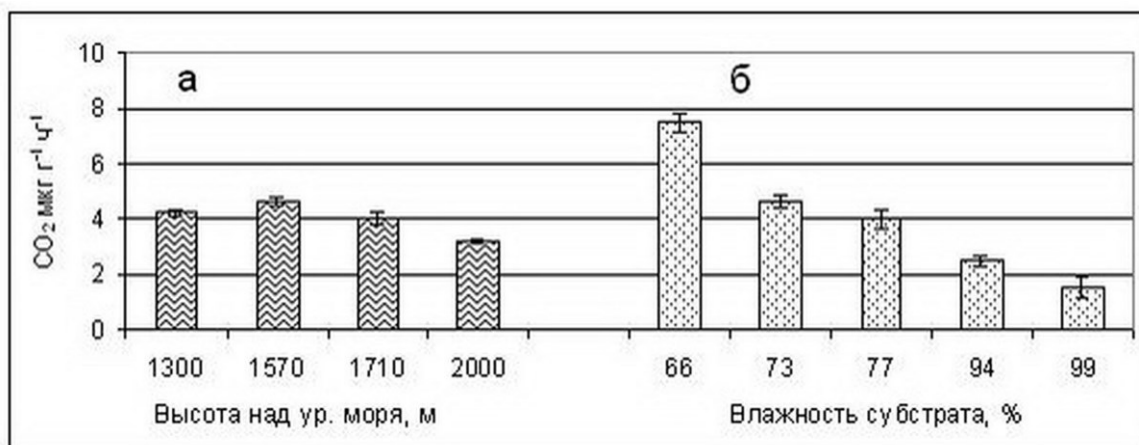
Высотный экологический профиль был заложен в Центральном Алтае в пределах макросклона Семинского хребта. Профиль начинался в субальпийском подпоясе (1300 м над ур. м.) и заканчивался в подгольцовом редколесье (2000 м над ур. м.). Исследования проводили на четырех пробных площадях (ПП), различающихся уровнем освещенности, содержанием влаги и гумуса в почве. Лесоболотный экологический профиль был заложен в северной части междуречья Оби и Томи, на правом берегу болота Таган. Были выделены 8 местообитаний, характеризующих последовательную смену экологических ступеней по градиенту влажности почвы. На ПП 1 деревья испытывали сезонную нехватку влаги, средняя часть склона имела оптимальный режим увлажнения, на ПП 8 отмечали постоянные избыточные условия увлажнения.

Проведенные исследования показали, что хвоя кедра сибирского из разных типов местообитаний, существенно различалась по величине отдельных морфоанатомических характеристик. Вдоль горного экологического профиля с увеличением высоты произрастания деревьев уменьшалась длина хвои, но увеличивалась ее толщина. Хвоя кедра в самой верхней точке профиля была на 30% короче и на 10% толще, чем хвоя в самой нижней точке. С подъемом в горы возрастали абсолютные значения площади мезофилла, центрального цилиндра и смоляных ходов соответственно на 23%, 17% и 32%. На лесоболотном экологическом профиле с увеличением влажности почвы уменьшалась длина хвои на 30%, возрастали абсолютные значения площади смоляных каналов на 40% и центрального цилиндра на 25%, площадь мезофилла практически не изменялись. По нашим данным на лесоболотном профиле число устьиц уменьшалось с увеличением влажности почвы и составило 260 на ПП1 и 180 шт/мм<sup>3</sup> на ПП8. Среднее количество устьиц в 1 мм<sup>3</sup> хвои на различных высотах практически не менялось и составило в среднем 230 шт.

Скорость поглощения CO<sub>2</sub> снижалась на пробных площадях с избытком и недостатком почвенной влаги. На лесоболотном профиле интенсивность фотосинтеза снижалась в 5 раз. На высотном профиле интенсивность фотосинтеза уменьшалась с подъемом в горы в 1,7 раза.

С увеличением высоты произрастания содержание зеленых пигментов уменьшается на 28%, причем, в большей степени уменьшалось содержание хлорофилла *a* и несколько меньше хлорофилла *b*. Содержание хлорофиллов и каротиноидов клинально

уменьшалось по градиенту влажности почв на лесоболотном профиле, в условиях сильного заболачивания их количество было снижено более чем в 3 раза. По высокогорному экологическому профилю из-за влияния комплекса неблагоприятных факторов содержание пигментов уменьшалось в меньшей степени, но увеличивалась доля каротиноидов в общем пигментном фонде. Их накопление было необходимо для усиления защитной роли от сильной инсоляции и перекисных соединений.



**Рис. 1. Интенсивность фотосинтеза двухлетней хвои кедра сибирского на высотном (а) и лесоболотном (б) профилях.**

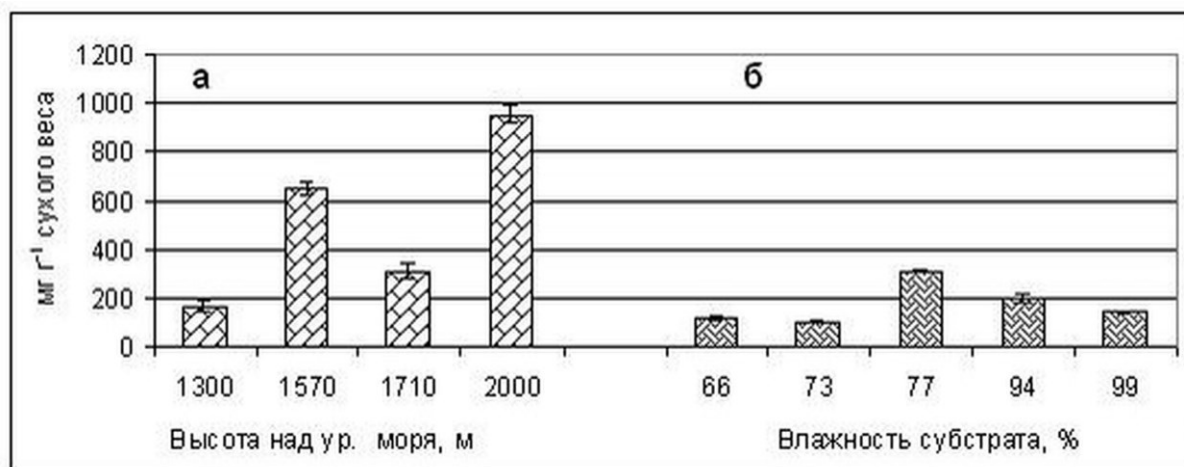
Таблица

**Содержание фотосинтетических пигментов в двухлетней хвое кедра сибирского, мг/г сухого веса**

Высотный профиль: высота над уровнем моря, м	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Каротиноиды
1300	2,0±0,028	1,26±0,06	0,83±0,04
1570	1,5±0,026	0,56±0,04	0,38±0,05
1710	1,4±0,14	0,54±0,04	0,43±0,04
2000	1,5±0,12	0,54±0,03	0,45±0,06
Лесоболотный профиль: влажность субстрата, %			
66	2,55±0,27	0,88±0,06	0,62±0,05
73	2,46±0,21	1,06±0,05	0,64±0,03
77	1,53±0,15	0,47±0,05	0,42±0,04
94	0,59±0,22	0,20±0,04	0,42±0,03
99	1,41±0,11	0,47±0,03	0,36±0,03

Аминокислота пролин часто рассматривается как маркер жизненного состояния растения. Его содержание увеличивается в травянистых растениях в связи с засухой и низкими температурами. Наши исследования показали, что хвоя с различных профилей характеризовалась различным уровнем свободного пролина. Высокое содержание пролина отмечено на высотном профиле по сравнению с лесоболотным профилем. Максимальное содержание пролина было на верхней точке профиля 955 мг/г сухого веса, его содержание увеличилось в 5 раз по сравнению с нижней точкой. С увеличением влажности на лесоболотном профиле содержание пролина возрастало в 2 раза и составило 102 мг/г сухого веса в верхней точке профиля и 202 мг/г сухого веса в нижней точке профиля. Незначительная амплитуда колебания содержания пролина между пробными площадями вдоль лесоболотного профиля и высокое содержание пролина на

высотного профиля свидетельствует о том, что эта аминокислота не может являться маркером стрессового состояния кедр при избытке или недостатке влаги в почве.



**Рис. 2** Содержание пролина в двухлетней хвое кедр сибирского на высотном (а) и лесоболотном (б) профилях.

Таким образом, структурные и физиологические реакции кедр в заболоченных и горных экосистемах неспецифичны и имеют сходный характер: уменьшение длины хвои, увеличение площади мезофилла, смоляных каналов и жилки, снижение содержания фотосинтетических пигментов и интенсивности фотосинтеза. Выявленные особенности реакции устьичного аппарата на лесоболотном профиле направлены на уменьшение интенсивности транспирации, на высотном профиле на усиление диффузии углекислоты к клеткам мезофилла.

## **ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ПРОРОСТКА РЕЛИКТОВОГО ЗЛАКА *MELICA TURCZANINOWIANA* OHWI**

Е.А. Бондаревич, Н.Н. Коцюржинская

Читинская государственная медицинская академия Минздрава России,  
Чита, bondarevich84@mail.ru, nata\_nik\_k@mail.ru

Одной из наиболее опасных групп ксенобиотиков, попадающих в живые организмы с промышленными и бытовыми отходами, являются тяжелые металлы (ТМ). В литературе ТМ часто рассматривают как единую группу токсикантов. Однако отдельные элементы отличаются по физико-химическим свойствам ионов, их влиянию на живые организмы и механизмам токсического действия [Серегин, 2009]. Опасность ТМ обусловлена их способностью к комплексообразованию с биолигандами, способностью к биоаккумуляции в растениях и концентрированному движению по трофической цепи [Прикладная экобиотехнология, 2012].

Проблемы экологической физиологии дикорастущих растений Восточного Забайкалья и их ответной реакции на загрязнение среды ТМ изучались недостаточно. Основные исследования касались особенностей накопления и валового содержания ТМ в некоторых видах древесных и травянистых растений в условиях городской среды и возле горно-обогатительных комбинатов [Ефименко, Лескова и др., 2008; Войтюк, 2011, Копылова, 2012]. В связи с этим значительный интерес представляет рассмотрение влияния ксенобиотиков на дикорастущие растения региона в условиях загрязнения. Кроме

того, актуальной проблемой современности является разработка технологий и методов по очистке загрязненных территорий наиболее доступными и экономически выгодными способами, примером которых является фиторемедиация, фитоэкстракция, фитостабилизация почв и вод [Прикладная экиобиотехнология, 2012]. Также эти методы могут быть использованы в биотестировании среды обитания.

**Целью работы** было изучение влияния ионов ТМ в условиях модельного загрязнения среды на рост и развитие проростков злака *Melica turczaninowiana* Ohwi.

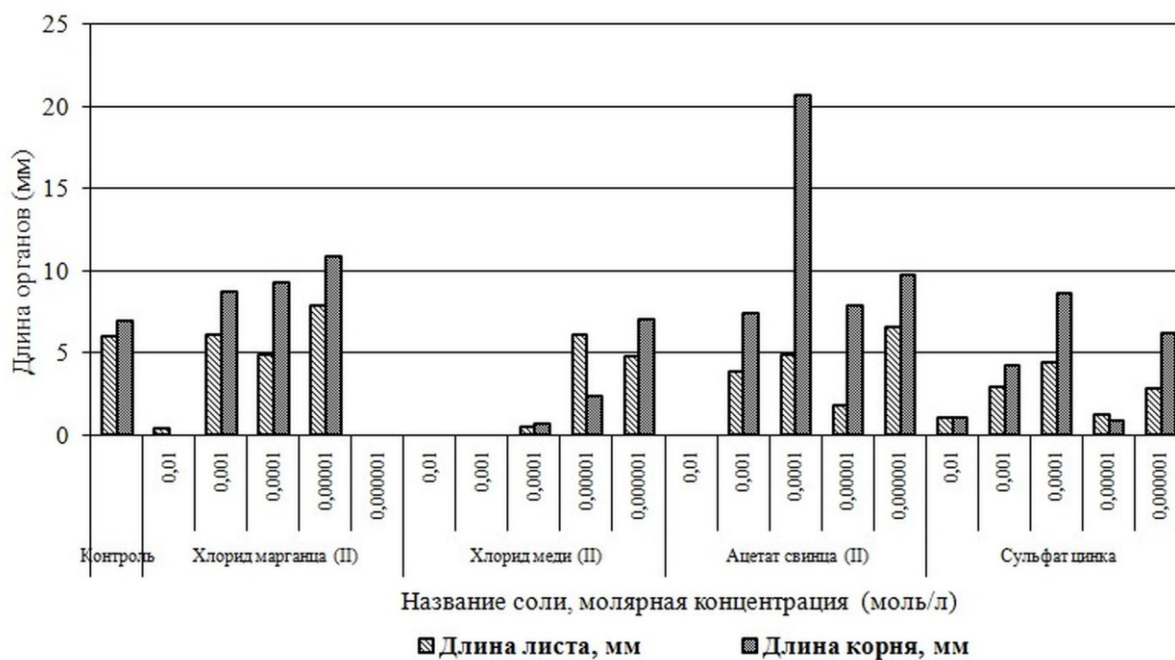
**Объект и методы исследования.** Объектом исследования являлись семена и проростки *M. turczaninowiana* (Poaceae), злак имеет восточноазиатский ареал и является неморальным реликтом [Удра, 1988; Бондаревич и др., 2013]. Вид относится к весьма редким [Редкие и исчезающие..., 1980].

Семенной материал собран в 2009 году в урочище «Никишиха» (Забайкальский край, Читинский район, в 2,5-3 км от федеральной трассы «Амур», пойма и склоны долины р. Никишиха) в лиственнично-березово-осиновом лесу. Семена помещались в чашки Петри на фильтровальную бумагу и проращивались в темноте при температуре 20-22°C в растворах солей  $MnCl_2$ ,  $CuCl_2$ ,  $ZnCl_2$  и  $(CH_3COO)_2Pb$  (х.ч.) с концентрациями  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  и  $10^{-6}$  моль/л. В качестве контроля использовалась дистиллированная вода. Производился подсчет числа проросших семян и измерение длины листьев и корня проростка на 3-и, 5-е, 7-е и 9-е сутки эксперимента.

**Результаты и обсуждение.** В результате проведенных исследований выяснено, что ионы ТМ на первых этапах эксперимента разнонаправлено действовали на рост и развитие проростков *M. turczaninowiana*. Проклевывание семян в контроле произошло через 72 ч и составило 40 %, в условиях модельного загрязнения в растворе  $CuCl_2$  проросло от 10 % ( $10^{-4}$  и  $10^{-6}$  М) до 40 % ( $10^{-6}$  М), в условиях действия ионов  $Mn^{2+}$  эта величина составила 10-20 % во всех растворах. В условиях избытка ионов  $Zn^{2+}$  проросло во всех растворах 30-40 % семян. При действии ионов  $Pb^{2+}$  в растворе с молярной концентрацией 0,01 М семена не проросли, в остальных растворах эта величина составила 20-40 %. В дальнейшем, в ходе эксперимента выявлено, что в растворах солей  $(CH_3COO)_2Pb$  (0,01 М) и  $CuCl_2$  (0,01 и 0,001 М) произошла гибель проростков *M. turczaninowiana* и прорастания не наблюдалось. Напротив низкие и сверхнизкие концентрации ( $10^{-3}$  –  $10^{-6}$  М) ионов  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  и наиболее токсичного иона  $Pb^{2+}$  по сравнению с контролем усиливали прорастание, которое было выше 90% (в контроле - 80 %).

Зависимость морфометрических показателей проростков злака к концентрации ионов в условиях модельного загрязнения имело более сложную картину. В ходе эксперимента выяснилось, что скорость роста корня, практически во всех растворах была выше, чем листа. К концу эксперимента линейные величины органов практически выровнялись в контроле, а в условиях действия ионов ТМ корень был примерно в 1,5-2 раза длиннее листа (рис. 1).

Следует отметить, что понижение концентрации ионов ТМ в растворе привело к стимуляции роста корней проростков *M. turczaninowiana* (рис. 1). Особенно заметно стимулирующее действие на рост и развитие корней у злака в растворах с молярной концентрацией 0,0001 ионов  $Pb^{2+}$  и 0,00001 ионов  $Mn^{2+}$ . В ходе проведенных исследований выявлено, что наиболее значительное влияние на развитие органов проростков *M. turczaninowiana* оказал раствор ацетата свинца (II) с молярной концентрацией 0,0001 (рис. 1). Соотношение линейных параметров лист/корень составило примерно 1:4, это позволяет сделать вывод о том, что ионы  $Pb^{2+}$  тормозят рост листьев, но стимулируют развитие и рост корней проростков. Следует отметить, что в других растворах ТМ этой же концентрации размеры листьев и корней были больше, чем в контроле, однако соотношение линейных параметров сохранялось в пределах 1,5-2 раза.



**Рис. 1. Средние параметры органов проростков *M. turczaninowiana* на 9-е сутки прорастания в условиях контроля и модельного загрязнения среды ионами ТМ.**

Таким образом, ионы ТМ проявляли как стимулирующий эффект, так и токсический, что вероятно, связано с их физиолого-биохимическими особенностями действия на растительные организмы. Высокая концентрация ионов ТМ в растворах в условиях модельного загрязнения влияла негативно, и проростки *M. turczaninowiana* останавливали рост и развитие и погибали. Позитивный эффект роста органов проростков злака связан можно объяснить особенностью механизмов связывания избытка ионов и их использования в качестве кофакторов в работе ферментных систем растений. К примеру, из литературных данных известно, что марганец является синергистом ионов  $Mg^{2+}$  и в биохимических процессах эти ионы активируют многие ферменты, катализирующие реакции с участием АТФ и регулируют энергетические процессы в организме [Барашков, 2011]. Процесс прорастания семени, является энергозатратным, поэтому наличие ионов  $Mn^{2+}$  в среде с оптимальной концентрацией стимулирует прорастание семян. Позитивное действие иона-токсиканта  $Pb^{2+}$  на развитие и рост корня у *M. turczaninowiana*, возможно, связано с низким содержанием белков в семенах [Бондаревич, Осипова, 2010; Бондаревич и др., 2013], а так же с блокированием факторов замедляющих прорастание и развитие корня.

#### Литература

- Барашков Г.К. Медицинская бионеорганика. Основы, аналитика, клиника. – М.: БИНОМ, 2011. – 512 с.
- Бондаревич Е.А., Борискин И.А., Якимова Е.П. Эколого-биологические особенности злаков Восточного Забайкалья. – Чита: Экспресс-издательство, 2013. – 184 с.
- Бондаревич Е.А., Осипова С.В. Высокое содержание глютелинов в семенах реликтового злака *Melica turczaninowiana* Ohwi // Журнал СФУ. Сер. Биология. 2010. Т 3, № 4. - С. 384-390.
- Войтюк Е.А. аккумуляция тяжелых металлов в почве и растениях в условиях городской среды (на примере г. Чита) // авт-т дисс. канд. биол. наук. Улан-Удэ, 2011. - 24 с.

Ефименко Е.А., Лескова О.А., Якимова Е.П. Роль растений в детоксикации тяжелых металлов в городской среде // Естественные и технические науки. № 5. М.: 2008. - С. 59-63.

Копылова Л.В. Накопление тяжелых металлов в древесных растениях на урбанизированных территориях Восточного Забайкалья // авт-т дисс. канд биол. наук. Улан-Удэ, 2012. - 24 с.

Кузнецов А.Е., Градова Н.Б., Лушников С.В., Энгельхарт М., Вайссер Т., Чеботарева М.В. Прикладная экобиотехнология. Т. 2. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. - С. 28-39.

Редкие и исчезающие растения Сибири. Новосибирск: Наука, 1980. 224 с.

Серегин И.В. Распределение тяжелых металлов в растениях и их действие на рост // авт-т дисс. д-ра биол. наук. М.: 2009. - С. 8-12.

Удра И.Ф. Расселение растений и вопросы палео- и биогеографии. – Киев, Наукова думка, 1988. - С. 110-111.

## **РОЛЬ СВЕТА В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ АЛЬТЕРНАТИВНОЙ ОКСИДАЗЫ И РОТЕНОН-НЕЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ НАД(Ф)Н-ДЕГИДРОГЕНАЗ МИТОХОНДРИЙ ПРИ ХОЛОДОВОМ ЗАКАЛИВАНИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ**

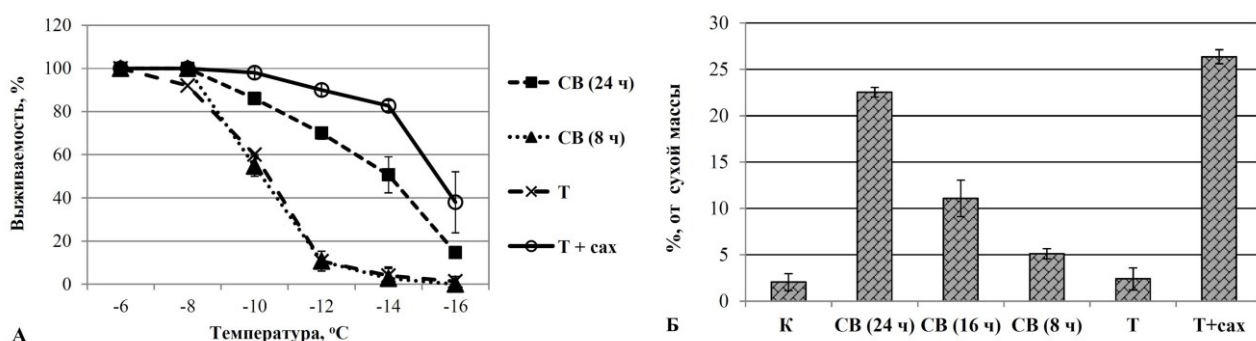
О.А. Боровик, О.И. Грабельных, Н.А. Королева, Т.П. Побежимова

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, ol.borovik@mail.ru

Наличие света является важным условием для успешного протекания первой фазы холодового закаливания растений. В условиях закаливания на свету за счет фотосинтеза образуются сахара, а понижение температуры значительно снижает их расход на дыхание и процессы роста. Сахара выполняют осморегуляторную, антифризную, криопротекторную и антиоксидантную функции, напрямую или опосредованно участвуют в передаче низкотемпературного сигнала, активируя транскрипцию множества генов. Важную роль в низкотемпературной адаптации растений играет активация митохондриальных энерго-рассеивающих систем. Так, при холодовом закаливании происходит повышение транскриптов альтернативной оксидазы (АО), содержания белка АО, а также увеличение ее активности [Грабельных и др., 2011; Armstrong et al., 2008; Wang et al., 2011]. В стрессовых условиях с АО может происходить коэкспрессия ротенон-нечувствительных НАД(Ф)Н-дегидрогеназ (НАД(Ф)Н-ДГ II типа) [Clifton et al., 2005; Armstrong et al., 2008]. Важную роль в активации этих ферментов играет свет [Xu et al., 2011; Yoshida et al., 2011]. Активация потока электронов через АО и НАД(Ф)Н-ДГ II типа может предотвращать свёрхвосстановление электрон-транспортной цепи хлоропластов при избыточном освещении, эффективно рассеивая избыток восстановительных эквивалентов от хлоропластов [Yoshida et al., 2011]. Значимость сохранения фотосинтеза при низких температурах как одного из основных факторов, от которого зависит успех адаптации растений к холоду и морозу, очевидна. Однако не известны механизмы регуляции активности АО и НАД(Ф)Н-ДГ II типа в митохондриях растений при формировании морозоустойчивости. В связи с этим, целью данной работы было выявление роли света в регуляции активности АО и альтернативных НАД(Ф)Н-ДГ в митохондриях листьев озимой пшеницы при холодовом закаливании, а также оценка взаимосвязи между их активностью, содержанием водорастворимых сахаров и морозоустойчивостью.

Растения озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Иркутская) выращивали на опытной станции Фитотрон СИФИБР СО РАН в камере BINDER KBW 720 (Германия)

при 23/20°C (день/ночь), 16 ч фотопериоде и освещенности 250 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Холодовое закаливание 7-ми суточных растений проводили в течение 7 дней или на свету при 5°C (24, 16 или 8 ч фотопериоды, освещенность 180 - 200 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>) или в темноте при 2°C (на 12%-ом растворе сахарозы или в ее отсутствии). Контрольные растения озимой пшеницы использовали в возрасте 9 суток. Для оценки морозоустойчивости растения промораживали в камере BINDER MKT 240 (Германия) при температурах от -2 до -20°C (снижение температуры происходило раз в сутки со скоростью 1°C/ч). Количественное содержание водорастворимых сахаров определяли с антроновым реактивом. Митохондрии выделяли из листьев и очищали в градиенте перколла. Энергетическую активность митохондрий анализировали полярографическим методом с использованием ингибиторов цитохромного (1,2 мМ KCN) и альтернативного (3 мМ бензгидроксамовая кислота) путей дыхания. Содержание белков НАД(Ф)Н-ДГ II типа изучали с помощью электрофореза в ПААГе с ДДС-На и вестерн-блоттинга.



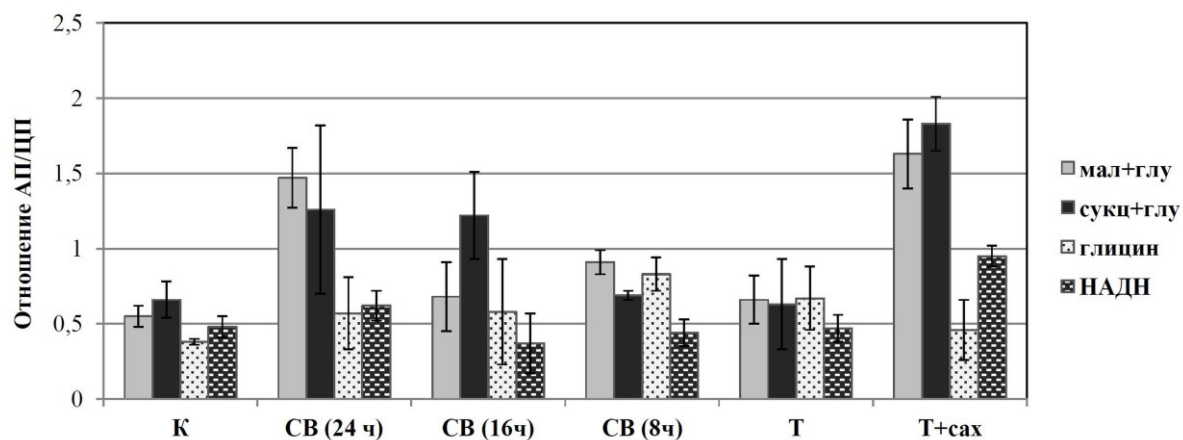
**Рис. 1. Морозоустойчивость озимой пшеницы (А) и содержание водорастворимых сахаров (Б) при холодовом закаливании в течение 7 суток.**  
**Обозначения:** К – растения, выращенные при 23/20°C, 9 суток; СВ (24 ч) – растения, закаленные при 5°C, 24 ч фотопериод; СВ (16 ч) – растения, закаленные при 5/2°C (день/ночь), 16 ч фотопериод; СВ (8 ч) – растения, закаленные при 5/2°C(день/ночь), 8 ч фотопериод; Т – растения, закаленные при 2°C в темноте; Т+сах – растения, закаленные при 2°C в темноте на 12%-ом растворе сахарозы. n=3-4. M±S.D.

Как видно из Рис. 1А, различные условия холодового закаливания по-разному повышают выживаемость растений озимой пшеницы. Наиболее морозоустойчивыми были растения, закаленные при 24 ч фотопериоде (LT<sub>50</sub>=-13,8°C) и в темноте на 12%-ом растворе сахарозы (LT<sub>50</sub>=-15,6°C). LT<sub>50</sub> для растений, закаленных как при 8 ч фотопериоде, так и в темноте, составляла -10°C, а для контрольных растений всего -2°C. Морозоустойчивость напрямую была связана с содержанием водорастворимых сахаров в листьях, наибольшее содержание которых наблюдалось у растений, закаленных в условиях круглосуточного освещения (22,6%) и в темноте на 12%-ом растворе сахарозы (26,4%) (Рис. 1Б).

Далее нами была проанализирована энергетическая активность изолированных из листьев озимой пшеницы митохондрий и проведена оценка вклада в дыхание альтернативного (АП) и цитохромного (ЦП) путей транспорта электронов. Митохондрии из контрольных растений окисляли различные субстраты (малат, сукцинат, глицин и НАДН), при этом, митохондрии из контрольных и закаленных растений (кроме варианта «Т» - закаливание в темноте) с наибольшим предпочтением окисляли НАДН и малат. Скорость окисления НАДН была выше у митохондрий, изолированных из листьев, закаленных при 24 ч фотопериоде и в темноте на 12%-ом растворе сахарозы. Наибольший вклад АП в дыхание обнаружен при окислении малата, сукцината и НАДН митохондриями из листьев, закаленных как в условиях 24 ч фотопериода, так и в темноте на



12%-ом растворе сахарозы. Активность АО при окислении малата митохондриями из листьев, закаленных в условиях 24 ч фотопериода, увеличивалась в 2,3 раза, в то время как при закаливании в темноте на 12%-ом растворе сахарозы в 3 раза. При окислении



**Рис. 2.** Влияние холодого закаливания на соотношение альтернативного и цитохромного путей транспорта электронов в митохондриях из листьев озимой пшеницы. Обозначения такие же, как на Рис. 1.  $n=3-8$ .  $M \pm S.D.$

сукцината митохондриями из листьев, закаленных в условиях 24 ч фотопериода и в темноте на 12%-ом растворе сахарозы, вклад АП в дыхание увеличивался в 1,8 и 2,8 раза, соответственно, а при окислении НАДН в 1,2 и 1,7 раза, соответственно (Рис. 2). С помощью иммуноблоттинга суммарных белков митохондрий с антителами против NDA и NDB обнаружено, что холодое закаливание в условиях как 24 ч фотопериода, так и в темноте на 12%-ом растворе сахарозы приводило к увеличению содержания белков «внешней» (NDB) и «внутренней» (NDA) НАД(Ф)Н-ДГ. Однако стоит заметить, что содержание изучаемых ротенон-нечувствительных НАД(Ф)Н-ДГ было выше в митохондриях из листьев, закаленных в условиях круглосуточного освещения.

Таким образом, нами показано, что морозоустойчивость озимой пшеницы в большей степени связана с содержанием водорастворимых углеводов и с увеличенной активностью АО в митохондриях. Наибольшая морозоустойчивость для озимой пшеницы развивалась при закаливании в условиях 24 ч фотопериода или в темноте на 12%-ом растворе сахарозы, при тех условиях, когда происходило наиболее значительное увеличение содержания сахаров. Холодое закаливание в этих условиях приводило к увеличению содержания в митохондриях NDB и NDA и увеличению вклада АО в дыхание митохондрий при окислении малата, сукцината и НАДН. Увеличение скорости окисления экзогенного НАДН митохондриями, увеличение содержания NDB и NDA и увеличение вклада АО при окислении НАДН при закаливании на свету или в темноте на растворе сахарозы свидетельствуют об эффективной работе этих энерго-рассеивающих систем в зеленых листьях озимых злаков и о их способности защищать фотосинтетический аппарат от избыточного образования восстановительных эквивалентов при низкотемпературном воздействии и благоприятствовать накоплению сахаров и развитию морозоустойчивости. Можно заключить, что свет участвует в регуляции активности АО и ротенон-нечувствительных НАД(Ф)Н-ДГ при холодом закаливании, но активация этих систем может происходить и в отсутствии света в условиях доступности субстратов дыхания.

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 8266.

## Литература

Грабельных О.И., Побежимова Т.П., Павловская Н.С., Королева Н.А., Боровик О.А., Любушкина И.В., Войников В.К. Антиоксидантная функция альтернативной оксидазы в митохондриях озимой пшеницы при холодовом закаливании // Биологические мембраны, 2011. – Т.28. – №4. – С.274–283.

Armstrong A.F., Badger M.R., Day D.A., Barthelet M.M., Smith P.M.C., Millar A.H., Whelan J., Atkin O.K. Dynamic changes in the mitochondrial electron transport chain underpinning cold acclimation of leaf respiration // Plant, Cell and Environment, 2008. – V.31. – P.1156–1169.

Clifton R., Lister R., Parker K.L., Sappl P.G., Elhafez D., Millar A.H., Day D.A., Whelan J. Stress-induced co-expression of alternative respiratory chain components in *Arabidopsis thaliana* // Plant Molecular Biology, 2005. – V.58. – P.193–212.

Wang J., Rajakulendran N., Amirsadeghia S., Vanlerberghe G.C. Impact of mitochondrial alternative oxidase expression on the response of *Nicotiana tabacum* to cold temperature // Physiology Plantarum, 2011. – V.142. – P.339–351.

Xu F., Yuan S., Lin H. Response of mitochondrial alternative oxidase (AOX) to light signals // Plant Signaling & Behavior, 2011. – V.6. – N1. – P.55-58.

Yoshida K., Terashima I., Noguchi K. How and why does the mitochondrial respiratory chain respond to light // Plant Signaling & Behavior, 2011. – V.6. – N6. – P.864-866.

## **ИЗМЕНЕНИЕ ПРОНИЦАЕМОСТИ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН И СОДЕРЖАНИЯ NO В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ТЕПЛОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ**

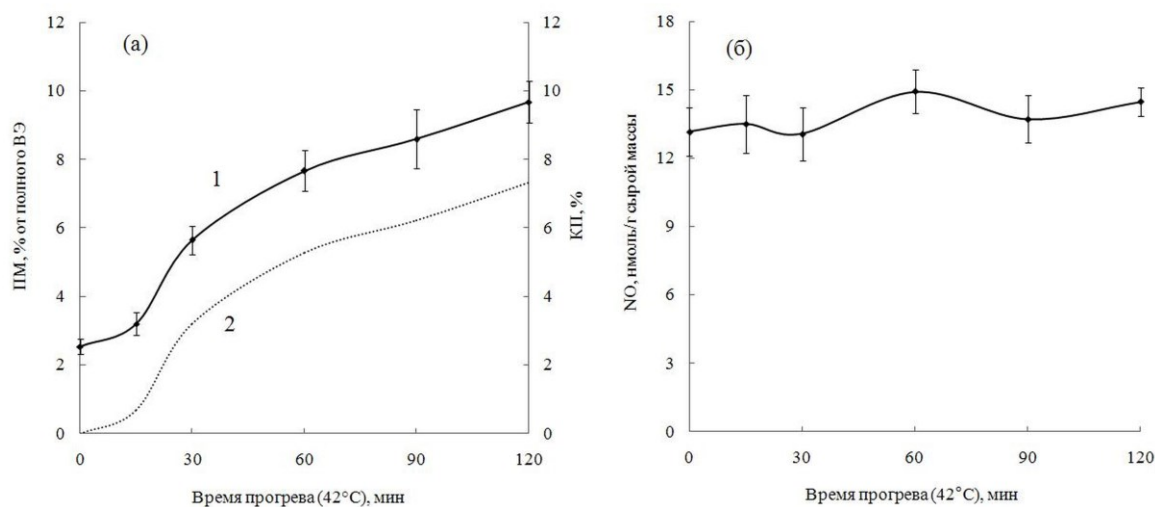
А.В. Бояршинов, Л.П. Хохлова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, ossian@mail.ru

Повышенные температуры наряду с засухой являются одним из наиболее неблагоприятных абиотических факторов, приводящих к значительному снижению продуктивности сельскохозяйственных растений [Wahid et al., 2007]. Известно, что плазматическая мембрана растительных клеток является первичным сенсором большинства внешних воздействий и триггером внутриклеточных сигнальных каскадов [Тарчевский, 2002]. В частности, перегрев вызывает изменение липидного состава, повышение текучести и активацию перекисного окисления липидов, что в конечном итоге приводит к увеличению проницаемости мембран для электролитов [Чиркова, 2002; Валиуллина и др., 2009]. В свою очередь установлено, что усиление продукции эндогенного оксида азота (NO) является одной из важнейших стрессовых реакций растений [Neill et al., 2008]. Можно предполагать, что термоиндуцированные изменения структурно-функционального состояния мембран являются первым звеном в активации NO-сигнальной системы растительных клеток. В связи с этим целью данной работы было изучение взаимосвязи между изменением проницаемости клеточных мембран и содержанием оксида азота в корнях растений пшеницы при действии высокой температуры.

Объектом исследования были корни 7-суточных проростков яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Омская 33, выращенных на водопроводной воде в условиях 12-часового фотопериода при температуре 25/22°C. Брали по 7-13 растений, срезали побеги на расстоянии 0.5 см от основания, корни промывали и инкубировали в дистиллированной воде 1 ч для устранения стресса, вызванного срезанием. Гипертермию создавали, помещая корни в нагретую до 42°C дистиллированную воду на 15, 30, 60, 90 и 120 мин. Контрольные растения анализировали сразу после предварительной инкуба-

ции и принимали эту точку за 0 мин прогрева. Проницаемость мембран (ПМ) измеряли кондуктометрически по экзосмосу электролитов в раствор после 2 ч инкубации и выражали в процентах от их полного выхода из убитых кипячением тканей [Dexter et al., 1932]. На основе данных о выходе электролитов (ВЭ) рассчитывали величину коэффициента повреждаемости (КП) мембран, позволяющего более точно оценить степень их повреждения при стрессе [Лукаткин и др., 1993]. Содержание оксида азота определяли спектрофотометрическим методом по реакции с нитритным реактивом Грисса и выражали в нмоль/г сырой массы корня [Zhou et al., 2005]. Результаты экспериментов обработаны статистически, достоверность различий оценена по критерию Стьюдента. На графиках представлены средние значения из 4-х биологических повторностей и их стандартные ошибки (рис.).



**Рис. Динамика проницаемости и коэффициента повреждаемости мембран (а) и содержания NO (б) в корнях яровой пшеницы при действии повышенной температуры. 1 - проницаемость мембран, 2 - коэффициент повреждаемости.**

Установлено, что проницаемость мембран корней пшеницы не изменялась к 15 мин и существенно (в 2.2 раза) возрастала через 30 мин теплового воздействия (рис., а). Дальнейший прогрев приводил к более плавному увеличению экзосмоса электролитов. В результате к 2 ч гипертермии ПМ повышалась в 3.8 раза относительно контроля, достигнув 9.7%, при этом коэффициент повреждаемости увеличился до 7.3%. Из литературных данных известно, что на разных этапах стрессового ответа на действие нарастающей температуры величина проницаемости мембран меняется с разной скоростью [Валиуллина и др., 2008]. По-нашему мнению, быстрое увеличение ВЭ в интервале между 15 и 60 мин гипертермии соответствует начальной фазе стресса, а медленное – фазе адаптации корней к продолжительному тепловому воздействию. Очевидно, что в дальнейшем представляет интерес получение более полной картины динамики проницаемости и определение временного порога повреждения мембран при данной температуре.

Динамика содержания оксида азота носила иной характер. На протяжении всех 120 мин теплового воздействия мы не обнаружили достоверных изменений количества NO в корнях. Можно отметить лишь тенденцию к повышению уровня NO после 60 мин прогрева (рис., б). В литературе содержатся неоднозначные сведения об изменении количества оксида азота в клетках растений при тепловом воздействии. Так, в эпидермальных клетках табака происходило существенное повышение уровня NO в первые 7 мин прогрева при 40°C, также как и в суспензионных клетках после 5 мин при

45°C [Gould et al., 2003]. Другие авторы наблюдали усиление скорости продукции NO при действии высокой температуры (45°C, 2 ч) в каллусных культурах тростника только устойчивого экотипа, в то время как у неустойчивого этот показатель оставался без изменений, при этом высокий уровень эндогенного NO коррелировал в том числе и с устойчивостью клеточных мембран, оцениваемой по уровню выхода электролитов и перекисного окисления липидов [Song et al., 2006]. Наиболее вероятными причинами отсутствия в наших опытах выраженной реакции изменения содержания эндогенного NO на нарастающее действие повышенной температуры могли быть влияние предварительного отсечения побегов на начальный уровень оксида азота, а также резкая смена температурного фона с 25°C до 42°C, вызывающая, возможно, подавление активности ферментных и других источников образования NO в тканях корня.

Таким образом, выяснение роли плазмалеммы как триггера NO-сигнальной системы в стрессовом ответе растений пшеницы на действие высокой температуры требует дальнейших исследований.

#### Литература

Валиуллина Р.Н., Рябовол В.В., Хохлова Л.П. Изменение экспрессии генов белков теплового шока в связи с разной устойчивостью растений к повышенной температуре // Доклады Академии наук, 2008. – Т.422 – № 6. – 845-847.

Валиуллина Р.Н., Рябовол В.В., Хохлова Л.П. Мембранные механизмы устойчивости разных сортов яровой пшеницы к повышенным температурам/ Актуальные проблемы сельскохозяйственной науки и практики в современных условиях и пути их решения: материалы Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных, посвящённой памяти Р.Г. Гареева, Казань, 26-27 февр., 2009. – Казань: Фолианть, 2009. – С.69-73.

Лукацкий А.С., Шаркаева Э.Ш., Зауралов О.А. Динамика изменений экзосмоса электролитов из листьев кукурузы при различной интенсивности холодового стресса // Физиология растений, 1993. – Т.40. – № 5. – С.770-775.

Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. М: Наука, 2002. – 294 с.

Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во СПбУ, 2002. – 240 с.

Dexter S., Tottingham W., Graber L. Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity // Plant Physiol., 1932 – V.7. – P.63-78.

Gould K.S., Lamotte O., Klinguer A., Pugin A., Wendehenne D. Nitric oxide production in tobacco leaf cells: a generalized stress response? // Plant, Cell and Environ, 2003. – V.26. – P.1851-1862.

Neill S., Barros R., Bright J., Desikan R., Hancock J., Harrison J., Morris P., Ribeiro D., Wilson I. Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress // J. Exp. Bot., 2008. – V.59. – P.165-176.

Song L., Ding W., Zhao M., Sun B., Zhang L. Nitric oxide protects against oxidative stress under heat stress in the calluses from two ecotypes of reed // Plant Science, 2006. – V.171. – No4. – P.449-458.

Wahid A., Close T.J. Expression of dehydrins under heat stress and their relationship with water relations of sugarcane leaves // Biol. Plant., 2007. – V. 51. – P.104-109.

Zhou B., Guo Z., Xing J., Huang B. Nitric oxide is involved in abscisic acid-induced antioxidant activities in *Stylosanthes guianensis* // Journal of Exp. Bot., 2005. – V.56. – P.3223-3228.

## СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ВОДНОГО ДЕФИЦИТА ЛИСТЬЕВ ВИДОВ РОДА *LONICERA* L. НА ЮЖНОМ БЕРЕГУ КРЫМА (ЮБК)

В.А. Браилко

Никитский Ботанический сад – Национальный Научный Центр, Ялта, valentina.brailko@yandex.ru

В связи с особенностями природных условий южных регионов Украины и ограниченным количеством осадков в период вегетации первостепенную роль играет способность растений регулировать водный режим надземных частей, водоудерживающую силу тканей и возможность репарации физиологических признаков после воздействия засухи. Актуальным для массового озеленения данных территорий является вопрос подбора устойчивых к экстремальным факторам эдафотопов видов растений. Опыт интродукции древесных и кустарниковых экзотов Никитского Ботанического сада – Национального Научного Центра (НБС-ННЦ) указывает на возможность пополнения ассортимента декоративного садоводства видами рода *Lonicera* L. [Анисимова, 1957]. Они отличаются высокой декоративностью во время цветения и плодоношения [Рябова, 1980; Галушко, 2005], ароматны, являются также плодовыми культурами [Рябова, 1980; Глухов, 2002], употребляются для вертикального озеленения [Глухов, 2002]. В связи с этим выявление особенностей водного режима – сезонной динамики водного дефицита данных видов и природы их приспособления к недостатку водообеспечения в условиях юга Украины представляется важной задачей как в теоретическом, так и в практическом плане.

Объектами исследований выступали листопадные (*Lonicera tatarica* L., *L. maakii* (Rupr.), *L. caprifolium* L., *L. etrusca* Santi.), полувечнозеленый (*L. fragrantissima* Lindl. et Paxt.) и вечнозеленые (*L. pileata* Oliv., *L. nitida* Wils.) виды жимолости, произрастающие в арборетуме НБС-ННЦ. Исследования проводили с апреля по сентябрь 2012 года. Пробы листьев отбирали во время максимального напряжения метеофакторов – полуденное, частота – подекадно на протяжении периода исследований. Показатель водного дефицита вычисляли по Кушнеренко, согласно методическим рекомендациям под редакцией А.И. Лищука (1991).

В работе также использованы данные агрометеостанции «Никитский сад», характеризующие погодные условия в период исследований.

На основании изучения вышеуказанного параметра водного режима листьев установлено, что амплитуда его варьирования была различна в зависимости от жизненной формы видов, метеоусловий года, однако направленность изменений однотипна. Начиная с конца мая, когда запасы влаги в почве уменьшались, содержание воды в листьях заметно снизилось и, следовательно, водный дефицит достиг своего максимального значения в первой декаде августа.

Молодые растущие листья листопадных жимолостей в апреле характеризовались высокими значениями реального водного дефицита (табл.1). Этот период отличался низкой влажностью воздуха (среднедекадное значение - 53%); повышенный температурный режим способствовал интенсивному накоплению температур воздуха выше 10<sup>0</sup>С, и по состоянию на 30 апреля таких температур накопилось: эффективных - 105<sup>0</sup>С, активных - 356<sup>0</sup>С, что соответственно выше нормы на 53<sup>0</sup>С и 102<sup>0</sup>С. Для вечнозеленых видов не отмечено такой тенденции возрастания водного дефицита в это время, так как их молодые листья уже полностью сформированы.

В условиях действия почвенной и атмосферной засухи (июль – август) сильно возрос реальный водный дефицит в листьях всех исследованных видов жимолости, а у *L. etrusca*, и *L. nitida* его значение было близким к сублетальному (табл. 2). В этих месяцах средние показатели температуры воздуха составили 26,4<sup>0</sup>С и 24,0<sup>0</sup>С; относитель-

ная влажность воздуха – 52 и 57% соответственно.

**Таблица 1**

**Динамика водного дефицита (% к количеству воды, насыщающей листья)**

Виды / месяц, декада	апрель	май	июнь	июнь	июль	июль	август	август	сентябрь
	III	III	I	III	II	III	I	III	I
<i>L. tatarica</i>	27,6	6,2	7,1	11,9	16,4	24,2	24,2	4,4	12,4
<i>L. maakii</i>	18,1	1,2	10,1	5,8	11,5	8,2	6,3	6,8	11,7
<i>L. fragrantissima</i>	18,7	3,4	7,1	9,3	4,9	8,8	8,8	1,5	10,4
<i>L. caprifolium</i>	7,1	8,4	8,2	5,4	22,1	15,3	15,3	5,1	8,9
<i>L. etrusca</i>	5,8	7,6	18,2	13,2	23,7	29,0	29,0	5,9	14,3
<i>L. nitida</i>	4,2	6,4	3,9	9,7	22,2	17,4	9,5	2,2	6,8
<i>L. pileata</i>	2,7	9,8	4,1	5,1	6,2	17,4	17,4	5,4	2,5

Если водный дефицит развивается постепенно, то растительному организму лучше удастся приспособиться к недостатку воды, заранее замедлив темпы ростовых процессов. Стремительное увеличение данного показателя повлекло явление преждевременного частичного листопада у *L. etrusca*. Вечнозеленый вид - *L. nitida* без полива во время летней засухи находился в угнетенном состоянии. У остальных видов отношение показателей реального и сублетального водных дефицитов более 1,3. Это позволяет высказать предположение о том, что эти виды к моменту наступления засушливого периода имеют более стабильный водный режим.

**Таблица 2**

**Сублетальный водный дефицит листьев видов рода *Lonicera* L.  
(сентябрь 2012 года)**

Виды	Общая оводненность листьев, %	Сублетальный водный дефицит (СВД), %	% площади повреждения листовой пластины после действия СВД, при вос- становлении
<i>L. tatarica</i>	61,3	40	5,4
<i>L. maakii</i>	60,1	45	6,5
<i>L. caprifolium</i>	68,7	35	5,5
<i>L. etrusca</i>	72,2	30	6,2
<i>L. fragrantissima</i>	50,3	30	6,5
<i>L. nitida</i>	68,3	35	6,5
<i>L. pileata</i>	76,9	25	5,3

Таким образом, изучая особенности динамики водного дефицита видов рода *Lonicera* L. в условиях ЮБК в течение вегетации можно оценить листопадные виды - *L. tatarica* и *L. maakii*, и полувечнозеленую *L. fragrantissima* как устойчивые к гидротермическому стрессу на протяжении вегетации. Некоторые вьющиеся листопадные жимолости контролируют потерю воды, преждевременно сбрасывая листья (*L. etrusca*). Наинизшей степенью адаптивности к вышеуказанным эдафическим условиям среды произрастания характеризуются вечнозеленые виды - *L. nitida* и *L. pileata*, которым для сохранения декоративных свойств и полноценного развития во время летней засухи необходим полив.

## Литература

- Анисимова А.И. Итоги интродукции древесных и кустарниковых растений в Никитском ботаническом саду за 30 лет (1926-1955). Ялта, 1957. – С.197 – 209.
- Галушко Р.В., Кузнецова В.М., Ежов М.В. Древесные растения с красивыми плодами и листьями в декоративном садоводстве. К.: Аграрна наука, 2005. – С. 18.
- Глухов А.В., Костырко Д.Р., Осавлюк С.Н. Виды рода жимолость на Юго-востоке Украины. Донецк. – 2002 – 120с.
- Рябова Н.В. Жимолость. Итоги интродукции в Москве. – М.: Наука, 1980. – 160с.
- Физиологические и биофизические методы в селекции плодовых культур / под ред. А.И. Лищука – М., 1991. – С.29-31.

## ДЕГИДРИНЫ В ГОДИЧНОМ ЦИКЛЕ РАЗВИТИЯ *BETULA PLATYPHYLLA*

В.В. Бубякина, Т.Д. Татарина, А.А. Перк, А.Г. Пономарев, И.В. Васильева

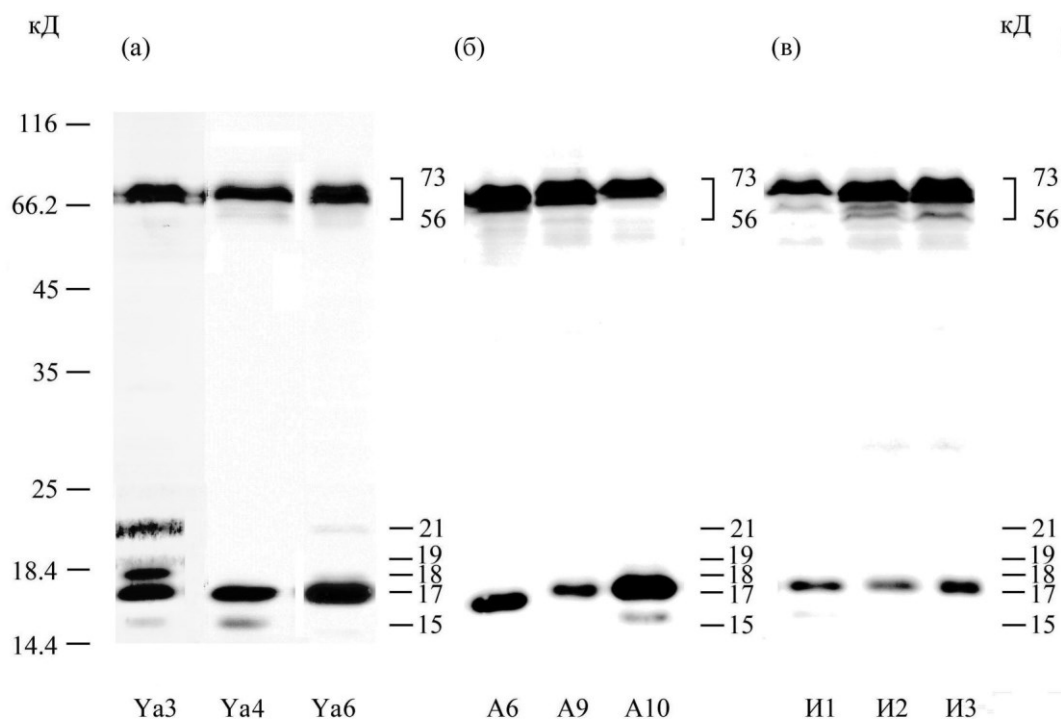
Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, anaronomarev@yandex.ru

Особенность климата криолитозоны определяется, в первую очередь, экстремально низкими температурами зимнего периода. Среди лиственных деревьев Восточной Сибири за счет высокой зимостойкости наибольший ареал сформировала береза повислая *Betula pendula* Roth., представленная местной разновидностью – березой плосколистной *Betula platyphylla* Sukacz. Известно, что низкотемпературный стресс индуцирует накопление специфических белков, что является одним из механизмов, защищающих растения от повреждения гипотермией [Войников, 2011]. Среди таких специфических белков повышенный интерес вызывают дегидрины, которые представляют собой группу II белков позднего эмбриогенеза [Kosova et al., 2010]. Они накапливаются в тканях растений в ответ на осмотический стресс, вызванный дефицитом воды, низкой температурой, высокой засоленностью. Эксперименты *in vitro* показали, что дегидрины проявляют много функций (шаперонную, криопротективную, антифризную, радикал-собирающую, ион-связывающую). Имеется ряд исследований древесных растений умеренных зон, в которых показано, что уровни дегидринов являются высокими в течение зимы и низкими в течение активного роста. Предполагается, что дегидрины участвуют в защите клеток у зимующих деревьев, когда идет отток воды из цитоплазмы и формируется экстраклеточный лед [Welling, Palva, 2010]. Ранее мы идентифицировали ряд дегидринов из отдельных органов берез Якутии [Бубякина и др., 2011; Петров и др., 2011]. Экологическая пластичность берез непосредственно связана с генетическим полиморфизмом, наблюдаемым также в картине полиморфизма ряда белков [Ветчинникова, 2004]. Изучение изменчивости дегидринов у индивидуальных экземпляров берез ранее ни кем не проводилось. Целью настоящей работы явилось выявление особенностей сезонной динамики и внутривидового полиморфизма дегидринов, ассоциированных с процессом криотолерантности почек – наиболее устойчивого органа *B. platyphylla* в разных по климату условиях Центральной и Южной Якутии

Выбранные для исследования районы Якутии являются наиболее контрастными по своим климатическим характеристикам в пределах республики. В Центральной Якутии средняя температура января – -43 °С. В Южной Якутии (Алдан) средняя температура января – -28 °С. Пробы отбирали в окрестностях г. Якутска (62° N, 129° E) и г. Алдана (58° N, 125° E). Отдельные экземпляры берез *B. pendula* Roth. из окрестностей г. Иркутска (52° N, 104° E) для сравнения также были проанализированы на полиморфизм дегидринов. В работе представлены данные по 3 индивидуальным деревьям каждой популяции. Для выделения суммарных белков почки березы (1,5 г) измельчали в жид-

ком азоте и 20 мл буфера для выделения [Korotaeva et al., 2012]. Гомогенат центрифугировали 20 мин при 50000 g. К супернатанту добавляли поливинилпирролидон (2,5 %) и центрифугировали 20 мин. Белки осаждали ацетоном при -20 °С. Содержание белка определяли по Лоури. Электрофорез проводили в 12,5% ПААГ с ДДС. Белки из ПААГ переносили на ПВДФ мембрану. Идентификацию дегидринов выполняли с помощью поликлональных антител против их К-сегмента (1:500).

Сравнение спектров дегидринов показало, что у изученных популяций берез наблюдались две области распределения мажорных дегидринов: низкомолекулярная – в интервале от 15 до 21 кД и среднемoleкулярная – в интервале от 56 до 73 кД (рис. 1).



**Рис. 1. Спектры дегидринов почек индивидуальных берез якутской (а), алданской (б) и иркутской (в) популяций в период покоя. Слева указаны молекулярные массы стандартов, справа – молекулярные массы дегидринов.**

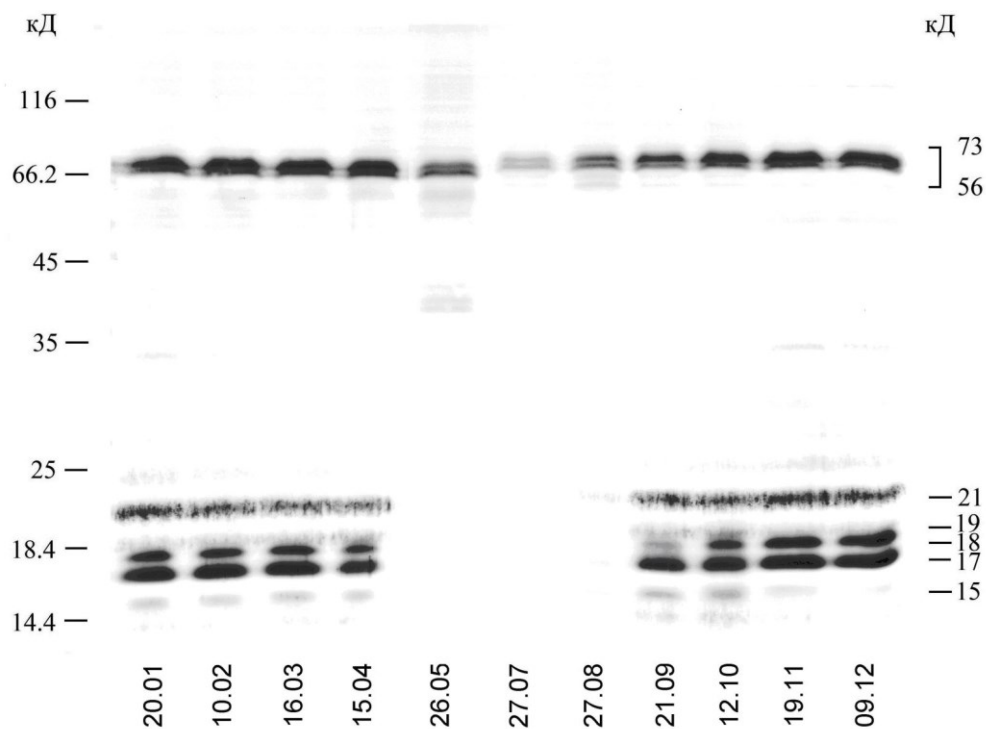
Относительно высокомолекулярные дегидрины имели множество форм (не менее 15). Причем мажорные 66- и 69 кД-дегидрины выявлены у большинства берез, другие мажорные белки – у отдельных экземпляров. Группа дегидринов с низкой молекулярной массой была более разнообразна у берез якутской популяции. Идентифицировались мажорные дегидрины с молекулярной массой 17, 18, 21 кД и минорные дегидрины с молекулярной массой 15 и 19 кД. У берез алданской популяции встречались только мажорный 17 кД- и минорный 15 кД- полипептиды. Также единственный низкомолекулярный мажорный дегидрин (17 кД) был обнаружен у иркутских берез. Таким образом, дегидрин с молекулярной массой 17 кД выявлен у всех исследованных берез.

Была изучена сезонная динамика якутской и алданской популяций берез. На рисунке 2 представлена, в качестве примера, сезонная динамика дегидринов березы Ya3 из Центральной Якутии.

Общими особенностями изменения уровней дегидринов в годичном цикле было их падение после выхода из покоя растений, минимальное их содержание или отсутствие во время ростового сезона и дальнейший подъем с окончанием вегетации. Дегидрины достигали относительно стационарного уровня в конце фенологической осени



в Якутии (октябрь). Динамика дегидринов с более высокими молекулярными массами (56-73 кД) отличалась от таковой низкомолекулярных дегидринов (15-21 кД). Первые имели более сглаженную сезонную вариабельность, присутствовали во все сезоны, хотя их количество падало во время вегетации. Группа низкомолекулярных дегидринов, напротив, имела выраженную динамику, исчезая полностью весной (апрель-май). Она не обнаруживалась в течение летних месяцев и появлялась вновь в начале цикла подготовки к покою. Предполагается, что эта группа белков ассоциирована с морозоустойчивостью *B. platyphylla*.



**Рис. 2.** Спектры дегидринов в почках березы УаЗ *B. platyphylla* якутской популяции с января по декабрь 2009 г. Слева указаны молекулярные массы стандартов, справа – молекулярные массы дегидринов.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №09-04-98556-р\_восток\_a.*

#### Литература

- Бубякина В.В., Татарина Т.Д., Пономарев А.Г., Перк А.А., Соломонов Н.Г. Особенности сезонной динамики дегидринов *Betula platyphylla* Sukacz., ассоциированные с формированием морозоустойчивости в условиях криолитозоны // Доклады академии наук, 2011. – Т.439. – № 6. – С. 844-847.
- Ветчинникова Л.В. Береза: вопросы изменчивости (морфо-физиологические и биохимические аспекты). – М.: Наука, 2004. – 183 с.
- Войников В.К. Митохондрии растений при температурном стрессе. – Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2011. – 163 с.
- Петров К.А., Софронова В.Е., Бубякина В.В., Перк А.А., Татарина Т.Д., Пономарев А.Г., Чепалов В.А., Охлопкова Ж.М., Васильева И.В., Максимов Т.Х. Древесные растения Якутии и низкотемпературный стресс // Физиология растений, 2011. – №6. – С. 866–874.
- Korotaeva N.E., Oskorbina M.V., Kopytova L.D., Suvorova G.G., Borovskii G.B., Voinikov V.K. Variations in the Content of Stress Proteins in the Needles of Common Pine (*Pinus sylvestris* L.) within an Annual Cycle // J. For. Res., 2012. – V.17. – P. 89-97.

Kosova K., Prasil I.T., Vitamvas P. Role of Dehydrins in Plant Stress Response // Handbook of Plant and Crop Stress / Ed. Pessaraki M. Tucson: CRC Press, 2010. – P. 239-285.

Welling A., Palva E.T. Molecular Control of Cold Acclimation in Trees // *Physiol. Plantarum*, 2006. – V. 127. – P. 167-181.

## **УСТОЙЧИВОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ ИЗ ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ ТЕХНОГЕННЫХ ЭКОТОПОВ К ДЕЙСТВИЮ ИНГРЕДИЕНТОВ ЭМИССИЙ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO***

Е.Н. Виноградова

Донецкий ботанический сад НАН Украины, Донецк, Украина, donetsk-sad@mail.ru

Растения, произрастающие в зоне влияния промышленных эмиссий или на почвах с повышенным содержанием металлов, могут проявлять повышенную устойчивость к основным ингредиентам загрязнения среды [Фазлиева и др., 2012]. Семенное потомство травянистых растений загрязненных территорий также часто бывает более устойчиво к воздействию эмиссий, чем потомство растений из природных местообитаний [Игошина, Косицин, 1990]. Таким образом, загрязнение среды, действуя как фактор отбора, способствует формированию устойчивых генотипов [Rout Gyana et al., 2000]. Поскольку токсическое действие поллютантов на растительный организм в значительной степени связано с инактивацией ферментов, одним из физиолого-биохимических механизмов адаптации растений техногенных экотопов может быть снижение чувствительности отдельных ферментов к прямому действию ингредиентов эмиссий [Игошина, Косицин, 1990; Феник и др., 1995]. В большинстве работ, посвященных анализу влияния токсикантов на растительные ферменты, изменение ферментативной активности изучалось при действии токсикантов на интактные растения. Однако закономерности влияния экзогенных веществ на ферменты растений *in vivo* не всегда совпадают с полученными при изучении их влияния на очищенные энзимы вследствие не только прямого, но и опосредованного действия [Гуральчук, 1994]. Поэтому необходимо изучение устойчивости ферментов, выделенных из листьев растений техногенных экотопов, к прямому действию ингредиентов эмиссий. Важная роль в адаптивных реакциях растений принадлежит пероксидазе, принимающей участие во многих процессах жизнедеятельности растений [Савич, 1989; Рогожин, 2004; Passardi et al., 2005]. Данный фермент способен обезвреживать токсичные перекисные соединения, образующиеся в клетке при воздействии стрессовых факторов [Scandalios, 2005]. Однако, несмотря на наличие в литературе большого фактического материала по влиянию различных факторов среды на активность и компонентный состав ферментов, в том числе и пероксидазы, собственно адаптация растений на уровне их каталитических свойств изучена фрагментарно.

Исследована чувствительность пероксидазы, выделенной из листьев тополя дельтовидного (*Populus deltoides* Marsh.), насаждения которого произрастают в зоне воздействия эмиссий коксохимического (КХЗ) и фенольного (ФЗ) заводов, к влиянию фенола, органического ингредиента эмиссий данных предприятий. Фенол, вообще не характерный для нормальной атмосферы, является одним из наиболее опасных в экологическом плане аэрополлютантов [Вінниченко, Долгова, 2001]. В модельных экспериментах изучена устойчивость к фенолу пероксидазы, выделенной из листьев трехнедельных проростков бромопсиса безостого (*Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub), выращенных из семян, собранных с растений популяции, нормально развивающейся в зоне воздействия

выбросов КХЗ. Контролем служили соответствующие объекты, произрастающие в условиях фонового уровня загрязнения. Для удаления эндогенных соединений, способных связывать и, таким образом, инактивировать фенол, проводили очистку пероксидазы с помощью высаливания сульфатом аммония и последовательных гель-фильтраций на сефадексах G-25 (*P. deltooides*) или G-50 (*B. inermis*) и G-100. Очищенные препараты фермента инкубировали при 25<sup>0</sup>С с водными растворами фенола в диапазоне концентраций 0,07-0,56 М (*P. deltooides*) и 0,03-0,40 М (*B. inermis*). Активность пероксидазы выражали в мкмольях окисленного субстрата (тетрагваякола, E=26,6 мМ<sup>-1</sup>см<sup>-1</sup>) за 1 мин на 1 мг белка. Устойчивость фермента оценивали по значению коэффициента устойчивости, который определяли как отношение активности фермента в пробе с фенолом к активности контрольной пробы, без токсиканта [Игошина, Косицин, 1990].

Выявлена четкая концентрационная зависимость снижения под влиянием фенола активности пероксидазы из листьев растений *P. deltooides* всех исследованных насаждений. Устойчивость к токсиканту фермента техногенных растений выше, чем контрольных, произрастающих в парковой зоне. В частности, минимальная концентрация фенола (0,07 М) вызывает снижение (на 11%) активности пероксидазы контрольных растений и не оказывает существенного влияния на фермент растений техногенных насаждений. Ингибирование фермента растений КХЗ и ФЗ начинается с концентрации токсиканта 0,14 М. Следует отметить, что устойчивость к фенолу пероксидазы из листьев растений ФЗ несколько выше, чем фермента растений КХЗ, для всего исследуемого градиента его концентраций. Максимальная концентрация токсиканта (0,56 М) вызывает снижение активности фермента контрольного насаждения на 73 %, насаждения КХЗ – на 54 % и ФЗ – на 47 %.

Повышенная устойчивость пероксидаз *P. deltooides* техногенных насаждений к ингибирующему действию фенола может быть результатом адаптивных изменений, происходящих в органах растений в ходе онтогенеза в условиях хронического действия эмиссий. Инактивация фермента токсикантом может осуществляться путём взаимодействия с его активным центром или изменения конформации молекулы при связывании токсиканта со специфической мишенью. По-видимому, адаптивные изменения приводят к конформационным модификациям фермента, способствующим защите от прямого действия поступающих в клетку экзогенных веществ. Наряду с изменением свойств ферментов на функциональном уровне, возможен также синтез изоформ с новыми свойствами, поскольку экспрессия изопероксидаз в различных тканях и органах растений может меняться в процессе онтогенеза [Nair, Showalter, 1996]. На экспрессию генов влияют эпигенетические изменения, способные передаваться по клеточным поколениям в онтогенезе, что, в конечном итоге, делает растение более устойчивым, чем было изначально [Корочкин, 2006].

Следующим этапом нашей работы было изучение влияния фенола на пероксидазу, выделенную из листьев проростков *B. inermis*. Выявлено, что начальные концентрации токсиканта (менее 0,10 М) не вызывают значимых изменений активности фермента потомства контрольной популяции. Увеличение концентрации фенола приводит к снижению пероксидазной активности контрольных растений вплоть до полного ингибирования максимальной концентрацией (0,40 М). Пероксидаза проростков техногенной популяции, напротив, активировалась под влиянием фенола в диапазоне его концентраций 0,03-0,30 М. Наибольшее увеличение активности фермента (на 40 %) вызывает минимальная концентрация токсиканта. Фенол в концентрации свыше 0,30 М вызывает резкое снижение активности пероксидазы, максимальное (на 94 %) для предельной его концентрации, однако и в этом случае каталитическая активность сохраняется. Большая устойчивость к влиянию фенола пероксидазы проростков *B. inermis* техногенной популяции по сравнению с контрольной статистически достоверна для всего исследуе-

мого градиента его концентраций.

Фенол, являясь одним из ингредиентов промышленных выбросов, в то же время может быть субстратом для пероксидазы [Квеситадзе и др., 2005]. В этой связи повышение активности фермента при действии начальных концентраций фенола, вероятно, можно объяснить реакцией активирования фермента субстратом. Повышенная толерантность к фенолу пероксидазы из листьев семенного потомства *B. inermis* популяции, адаптированной к условиям воздействия промышленных эмиссий, может свидетельствовать о достижении данной популяцией определенного уровня генотипической дифференциации, что отображается в наследовании признаков устойчивости к поллютантам. Локальные популяции адаптируются к условиям техногенного загрязнения, вероятно, за счёт отбора изначально устойчивых генотипов и физиолого-биохимических изменений, расширяющих или смещающих диапазон нормы их реакции. Однако адаптивные модификации молекул пероксидазы могут быть эффективными лишь до определённого уровня накопления токсиканта в клетках растений, превышение которого неизбежно ведёт к инактивированию фермента.

#### Литература

Вінниченко О.М., Долгова Л.Г. Екофізіологічні проблеми фітоценозів та біологічна активність едафотопів в умовах теногенних територій // Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть. Сб. наук. праць у двох томах – Т. 2. – Київ: Високий урожай, 2001. – С. 23-36.

Гуральчук Ж.З. Механизмы устойчивости растений к тяжёлым металлам // Физиология и биохимия культурных растений, 1994. – Т. 26, № 2. – С. 207-117.

Игошина Т.И., Косицин А.В. Устойчивость к свинцу карбоангидразы *Melica nutans* (Роасеae) // Ботанический журнал, 1990. – Т. 75, № 8. – С. 1144-1150.

Квеситадзе Г.И., Хатисашвили Г.А., Садунишвили Т.А., Евстигнеева З.Г. Метаболизм антропогенных токсикантов в высших растениях. – М.: Наука, 2005. – 199 с.

Корочкин Л.И. Что такое эпигенетика // Генетика, 2006. – Т. 42, № 9. – С. 1156-1164.

Рогожин В.В. Пероксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов. – С.-Пб.: ГИОРД, 2004. – 240 с.

Савич И.М. Пероксидазы – стрессовые белки растений // Успехи современной биологии, 1989. – Т. 107, вып. 3. – С. 406-417.

Фазлиева Э.Р., Киселева И.С., Жуйкова Т.В. Антиоксидантная активность листьев *Melilotus albus* и *Trifolium medium* из техногенно нарушенных местообитаний Среднего Урала при действии меди // Физиология растений, 2012. – Т.59, № 3. – С. 369-375.

Феник С.И., Трофимьяк Т.Б., Блюм Я.Б. Механизмы формирования устойчивости растений к тяжёлым металлам // Успехи современной биологии, 1995. – Т. 115, № 3. – С. 231-275.

Nair A.R., Showalter A.M. Purification and characterization of a wound-inducible cell wall cationic peroxidase from carrot roots // Biochem. Biophys. Res. Comm., 1996. – 226. – P. 254-260.

Passardi F., Cosio C., Penel C., Dunandi C. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife // Plant Cell Reports., 2005. – Vol. 24, № 5. – P. 255-265.

Rout Gyana R., Samantaaray Sanghamitra, Premananda Das. Effects of chromium and nickel on germination and growth in tolerant and non-tolerant populations of *Echinochloa colona* (L.) Link // Chemosphere, 2000. – Vol. 40, № 8 – P. 855-859.

Scandalios J.G. Oxidative Stress: Molecular Perception and Transduction of Signals Triggering Antioxidant Gene Defenses // Braz. J. Med. and Biol. Res., 2005. – Vol. 38, № 7. – P. 995-1014.

## ДЫХАНИЕ И ПРО-/АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС ЛИСТА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ К ВЫСОКОЙ ИНСОЛЯЦИИ

Е.В. Гармаш<sup>1</sup>, Е.В. Коковкина<sup>1</sup>, О.В. Дымова<sup>1</sup>, D. Latowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, garmash@ib.komisc.ru

<sup>2</sup>Jagiellonian University, Krakow, Poland

Основным источником активных форм кислорода (АФК) в фототрофных тканях листа являются электрон-транспортные цепи (ЭТЦ) хлоропластов и митохондрий. В природе растения нередко испытывают влияние избытка освещенности, особенно при неблагоприятном воздействии других факторов среды, что приводит к развитию окислительного стресса. Согласно современным представлениям, первичная антирадикальная защита, наряду с нейтрализацией АФК антиоксидантной системой, включает быстрое использование  $O_2$  в дыхательной цепи. Вовлечение нефосфорилирующего альтернативного пути (АП) через цианидустойчивую альтернативную оксидазу (АОХ) обеспечивает поддержание окислительно-восстановительного баланса в митохондриальной цепи и препятствует чрезмерному образованию АФК [Millenaar, Lambers, 2003]. Полагают, что АОХ участвует также в окислении избытка восстановительных эквивалентов, выносимых в цитозоль из хлоропластов, тем самым снижая вероятность фотоингибирования [Noguchi, Yoshida, 2008].

Целью данной работы было исследовать дыхательную активность и выявить закономерности вовлечения АП на фоне изменения про-/антиоксидантного статуса листа модельных видов растений (*Plantago media* L., *Ajuga reptans* L.), адаптированных к произрастанию при полном солнечном освещении. Оба вида характеризуются высокой морфофизиологической пластичностью по отношению к свету, но в природе предпочитают более затененные местообитания. Как известно, устойчивость фотосинтетического аппарата растений к избыточной ФАР связана с наличием механизмов нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (qN). Установлено, что у живучки ползучей и подорожника среднего существенный вклад в этот процесс вносит зеаксантин-зависимый механизм диссипации энергии, связанный с конверсией пигментов виолаксантинного цикла [Дымова и др., 2010; Головки и др., 2011].

В опытах использовали растения живучки ползучей (*A. reptans*), произрастающие на территории Ботанического сада Ягиеллонского университета (Краков, Польша) под пологом тиса (теневые, Т-растения) и на открытом участке (световые, С-растения). Две группы растений подорожника среднего (*Plantago media* L.) произрастали на известняковых обнажениях Южного Тимана (62°45'с. ш., 55°49'в. д.): на склоне (С-растения) и в густом травостое (Т-растения). Световые растения получали в 5-7 раз больше света, чем теневые.

Об окислительном стрессе можно судить по содержанию активных радикалов кислорода и уровню липопероксидации. В наших экспериментах содержание супероксидрадикала ( $O_2^-$ ) в листьях обоих видов растений практически не менялось в зависимости от светового режима обитания. Это было, в первую очередь, связано с эффективной работой супероксиддисмутазы (СОД) – фермента, нейтрализующего  $O_2^-$  до  $H_2O_2$ . Активность СОД в листьях С-растений была выше в 1.5 раза по сравнению с Т-растениями. Листья световых фенотипов растений мало отличались по интенсивности дыхания. При этом активность и доля АП была вдвое выше у С-растений, чем у Т-растений. Известно, что причиной образования  $O_2^-$  в митохондриях является перевосстановление пула убихинона [Navrot et al., 2007]. АОХ в ЭТЦ митохондрий принимает электроны непосредственно с пула убихинона, восстанавливая кислород до воды. Следовательно, тот факт, что содержание супероксидрадикала ( $O_2^-$ ) в световых и теневых

листьях было одинаковым, можно связать не только с активацией СОД на свету, но и с предотвращением избыточного образования  $O_2^-$  в ЭТЦ митохондрий, благодаря вовлечению АП.

Основной мишенью стрессового воздействия являются клеточные мембраны, о состоянии которых судят по липидной составляющей. Выявлено, что в листьях С-растений подорожника и живучки уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) был соответственно в 1.3 и 1.8 выше, чем у Т-растений. Возможно, это обусловлено аккумуляцией в клетке других АФК, в частности, перекиси.  $H_2O_2$  является более стабильным продуктом, чем  $O_2^-$ . Однако листья С-растений подорожника практически не отличались по активности каталазы и пероксидазы – антиоксидантных ферментов, разлагающих перекись.

Таким образом, физиолого-биохимическая стратегия растений в условиях высокой инсоляции, в первую очередь, направлена на детоксикацию супероксида, накопление которого приводит не только к образованию перекиси, но и самого опасного продукта неполного восстановления молекулы кислорода – гидроксилрадикала. Этому способствуют активация антиоксидантного фермента СОД и терминальной оксидазы АП. Усиление ПОЛ и слабая реакция антиоксидантных ферментов, разлагающих перекись, могут свидетельствовать о повышенном прооксидантном статусе С-растений. Нарушение окислительно-восстановительного равновесия в условиях хронически высокой инсоляции, по-видимому, является стабильной характеристикой метаболизма С-растений, связанной с развитием устойчивости к световому фактору.

*Работа поддержана грантом Уральского отделения РАН № 12-У-4-1008.*

#### Литература

Головко Т.К., Далькэ И.В., Захожий И.Г., Дымова О.В., Табаленкова Г.Н. Функциональная пластичность и устойчивость фотосинтетического аппарата *Plantago media* к фотоингибированию // Физиология растений, 2011. – Т.58. – С.490-501.

Дымова О.В., Гриб И., Головко Т.К., Стржалка К. Состояние пигментного аппарата зимне- и летнезеленых листьев теневыносливого растения *Ajuga reptans* L. // Физиология растений, 2010. – Т. 57. – С.809-818.

Millenaar F.F. Lambers H. The Alternative oxidase: in vivo regulation and function // Plant Biology, 2003. – Vol. 5. – P. 2-15.

Navrot N., Rouhier N., Gelhaye E., Jacquot J.-P. Reactive species oxygen generation and antioxidant systems in plant mitochondria. Physiologia Plantarum, 2007. – Vol. 129. – P. 185-195.

Noguchi, K., Yoshida, K. Interaction between photosynthesis and respiration in illuminated leaves // Mitochondrion, 2008. – V. 8. – P. 887-899.

### **ВОВЛЕЧЕНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНОГО ПУТИ ДЫХАНИЯ ПРИ ДЕЭТИОЛЯЦИИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ**

Е.В. Гармаш<sup>1</sup>, О.И. Грабельных<sup>2</sup>, И.О. Велегжанинов<sup>1</sup>,  
О.А. Боровик<sup>2</sup>, В.К. Войников<sup>2</sup>, Т.К. Головко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, garmash@ib.komisc.ru

<sup>2</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск

Растения как прикрепленные организмы развили в процессе эволюции физиолого-биохимические механизмы защиты от избытка световой энергии. К настоящему времени появляются экспериментальные данные о том, что наряду с фотопротекторной си-

стемой хлоропластов, в защите клетки от фотодеструкции и создании оптимальных условий для протекания фотосинтеза может участвовать электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) митохондрий [Noguchi, Yoshida, 2008]. Особая роль отводится альтернативному (цианидрезистентному) пути (АП). В отличие от основного (цитохромного) пути, перенос электронов с пула убихинона на альтернативную оксидазу (АОХ) не сопряжен с поляризацией внутренней митохондриальной мембраны и, следовательно, энергетически неэффективен. Показано, что этот путь активируется под влиянием различных абиотических (температура, засоление, водный дефицит) и биотических стрессов [Vanlerberghe, McIntosh, 1997; Vanlerberghe et al., 2009].

В данной работе исследована роль альтернативного дыхания в процессе деэтиоляции проростков яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L., с. Иргина) на непрерывном свете ( $190 \mu\text{моль м}^{-2} \text{с}^{-1}$ ) в течение 48 ч. Установлена связь дыхания со степенью развития фотосинтетического аппарата. Максимальная скорость дыхания, измеренная по скорости выделения  $\text{CO}_2$  и поглощения  $\text{O}_2$ , обнаружена на более поздних этапах деэтиоляции (4-12 ч освещения), когда тилакоидная система хлоропластов уже сформирована, но фотосистемы I и II еще полностью не развиты [Garmash et al., in press]. Повышение скорости дыхания сопровождалось индукцией альтернативного пути (АП). Доля АП возрастала и достигала наибольшего значения (50% общего дыхания листа) в период от 4 до 6 ч зеленения. Положительная линейная связь ( $R^2=0.8$ ) между скоростью тепловыделения ( $q$ ) и альтернативного дыхания свидетельствует об участии АП в диссипации энергии. Изменения дыхания изолированных митохондрий были сходными с таковыми у листьев. Сохраненные митохондрии, выделенные в первые 3-6 ч зеленения, характеризовались более высокой окислительной активностью при использовании различных субстратов (малат, сукцинат, НАДН) и повышенным участием АОХ в дыхании.

ОТ-ПЦР-анализ показал, что вовлечение АП сопровождалось активацией экспрессии генов АОХ, главным образом, *AOX1a*. Экспрессия второго идентифицированного в листе пшеницы гена, кодирующего АОХ - *AOX1c* [Takumi et al., 2002], происходила комплементарно к *AOX1a*.

С использованием вестерн-блоттинга было установлено, что митохондрии этиолированных проростков содержали больше белка АОХ по сравнению с митохондриями, полученными из листьев после 6 ч зеленения, но судя по вовлечению АП, его активность была заметно ниже. К концу 24 ч периода зеленения содержание белка АОХ значительно (в 1.5-2 раза) возрастало как по отношению к этиолированным, так и по отношению к деэтиолированным в течение 6 ч проросткам. Однако активность белка АОХ у проростков, экспонированных к свету 24 ч, была почти вдвое ниже. Одной из причин могло быть ограничение в доступности дыхательного субстрата (растворимых углеводов). Известно, что рост и биосинтезы в этиолированных проростках обеспечиваются исключительно за счет запасов зерновки, которые быстро истощаются. В процессе зеленения осуществляется постепенный переход на автотрофное питание. Вместе с тем, возрастают потребности в субстрате для создания биомассы *de novo*. Это и определяет сложную связь дыхания с количеством растворимых углеводов.

Формирование фотосинтетической системы в процессе зеленения и переход на новый тип питания предполагают изменения энергетического состояния и про-/антиоксидантного баланса клеток. Имея ввиду, что одной из важнейших функций альтернативного пути дыхания является предотвращение избыточного накопления АФК [Maxwell et al., 1999], мы проанализировали связь АП с параметрами, характеризующими состояние про-/антиоксидантного баланса в листьях зеленеющих проростков. Корреляция между активностью АП, уровнем перекисного окисления липидов и концентрацией супероксидрадикала была слабой. По-видимому, АП в зеленеющих проростках участвует не только в снижении накопления АФК, но имеет и другие функции,

что согласуется с мнением ряда авторов [Fiorani et al., 2005]. Скорее всего, одной из основных причин усиления активности АП при деэтиоляции является участие в окислении восстановительных эквивалентов, поступающих из хлоропластов в митохондрии посредством челноков при близком контакте органелл. Ранее такое же мнение было высказано в работе [Noguchi, Yoshida, 2008]. По нашим данным в процессе зеленения проростков пшеницы происходит увеличение нахождения митохондрий в зоне расположения хлоропластов. Это косвенно свидетельствует об обмене метаболитами между органеллами.

Важно отметить сходство динамики вовлечения АП и активации фотопротекторных механизмов диссипации энергии в хлоропластах зеленеющих проростков пшеницы. Нами установлено, что усиление нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла и скорости его индукции было связано с функционированием зеаксантин-зависимого механизма диссипации энергии в пигмент-белковых комплексах ФС II. Сходный характер изменения активности основных энерго-диссипирующих систем в хлоропластах и митохондриях указывает на связь и сбалансированность работы защитных систем фототрофных клеток.

Таким образом, нами выявлены закономерности изменения дыхания и соотношения дыхательных путей в процессе деэтиоляции листа проростков пшеницы. Ход дыхания листа был тесно связан с модуляцией активности альтернативного пути. Вовлечение АП коррелировало с уровнем экспрессии гена *AOX1a* и не зависело от количества белка альтернативной оксидазы. В целом, результаты работы свидетельствуют в пользу представлений об участии АП дыхания в поддержании гомеостаза фотосинтезирующей клетки в период становления фотосинтетической функции.

Авторы благодарят А.И. Катышева за подбор праймеров исследуемых генов. Работа поддержана грантом Уральского отделения РАН № 12-У-4-1008.

#### Литература

Garmash E.V., Dymova O.V., Malyshev R.V., Plyusnina S.N., Golovko T.K. Developmental changes in energy dissipation in etiolated wheat seedlings during the greening process // *Photosynthetica*, 2013. *In press*.

Maxwell D.P., Wang Y., McIntosh L. The alternative oxidase lowers mitochondrial reactive oxygen production in plant cells // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 1999. – V. 96. – P. 8271–8276.

Noguchi K., Yoshida K. Interaction between photosynthesis and respiration in illuminated leaves // *Mitochondrion*, 2008. – V. 8. – P. 887–899.

Rasmusson A.G., Escobar M.A. Light and diurnal regulation of plant respiratory gene expression // *Physiologia Plantarum*, 2007. V. 129. – P. 57–67.

Takumi S., Tomioka M., Eto K., Naydenov N., Nakamura C. Characterization of two non-homoeologous nuclear genes encoding mitochondrial alternative oxidase in common wheat // *Genes & Genetic Systems*, 2002. – V. 77. – P. 81–88.

Vanlerberghe G.C., McIntosh L. Alternative oxidase: from gene to function // *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1997. – V. 48. – P. 703–734.



## СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЗАСУХИ И ПОНИЖЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА МИТОХОНДРИИ ЭПИКОТИЛЕЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА

И.П. Генерозова, П.А. Буцанец, А.Г. Шугаев

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, igenerozova@mail.ru

При исследовании воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды на растения исследователей обычно привлекают в первую очередь сильные воздействия, имеющие значительный повреждающий эффект. Но и небольшие отклонения от нормальных условий могут повлиять на ответную реакцию растения, особенно в сочетании с другим стрессовым фактором, как это нередко происходит в природных условиях.

Одним из наиболее распространенных повреждающих воздействий является засуха, которая часто поражает посевы в степной зоне, где расположены основные сельскохозяйственные угодья. Другим неблагоприятным фактором довольно часто оказывается колебание температуры. В настоящей работе мы исследовали последствия 1-суточной засухи и пониженной с 26 до 16 градусов температуры, действующих отдельно и в комплексе на этиолированные проростки гороха сорта Флора-2. Результаты получали на вторые сутки после реабилитации проростков в контрольных условиях водного и температурного режима, исследуя их эпикотили. Мы фокусировали внимание в первую очередь на дыхательном метаболизме митохондрий, который подвержен изменениям даже при незначительных колебаниях внешних воздействий на растения [Atkin et al, 2000]. Работу дыхательного аппарата оценивали в связи с нарушением водного статуса эпикотилей и их роста. Засуху создавали, помещая проростки на сухой лист фильтровальной бумаги.

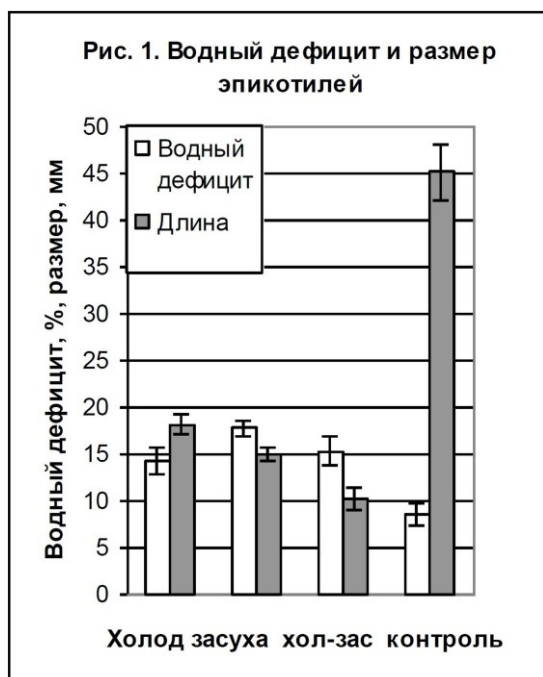
Митохондрии выделяли из эпикотилей и исследовали по методу, описанному ранее [Генерозова и др., 2009]. Поглощение кислорода митохондриями измеряли амперометрически на полярографе LP-7 (Чехия), и приборе Oxytherm Hansatech instruments (UK). Добавку малата и сукцината сопровождали внесением глутамата для устранения оксалоацетата.

Величина водного дефицита непосредственно после 1-суточного холодового воздействия составляла 23%, тогда как после засухи и холода-засухи достигала величин 46 и 50% соответственно. Однако после 2 суток реабилитации эти показатели улучшились (Рис. 1), особенно после холода-засухи, что свидетельствует о высоких способностях ткани поглощать воду после сильного стресса. Однако другие показатели восстанавливались не так быстро.

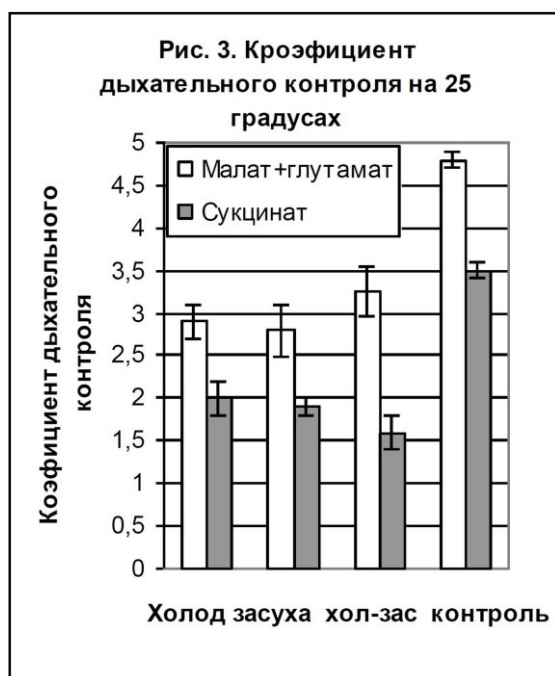
Результаты показывают, что наиболее неблагоприятно влияли на рост проростков пониженная температура и засуха, действующие совместно (Рис. 1). После одного только похолодания рост составлял 40% от контроля, после одной засухи - 33%. Но при совместном воздействии холода и засухи этот показатель понижался до 22,5%.

Исследуя скорость окисления субстратов малата и сукцината в состоянии 3, мы обнаружили, что скорость окисления малата более чувствительна к неблагоприятным воздействиям, чем скорость окисления сукцината (рис. 2). При этом сильнее всего была заторможена скорость окисления малата в вариантах с присутствием засухи. При сопоставлении исследуемых вариантов видно, что величины подавления скорости окисления малата не были обратно пропорциональны величинам водного дефицита (рис. 1). Напротив, скорость окисления сукцината сильнее тормозилась при засухе и скорость окисления сукцината была обратно пропорциональна величине водного дефицита (рис. 2). Скорость окисления малата в состоянии 4 также тормозилась более значительно, чем сукцината. Тем не менее величина дыхательного контроля (ДК), т.е. отношение  $V_3/V_4$ , при окислении малата находилась в районе 3. При окислении сукцината, вслед-

ствие роста скорости окисления в состоянии 4, величина ДК понижалась более существенно (рис. 3).



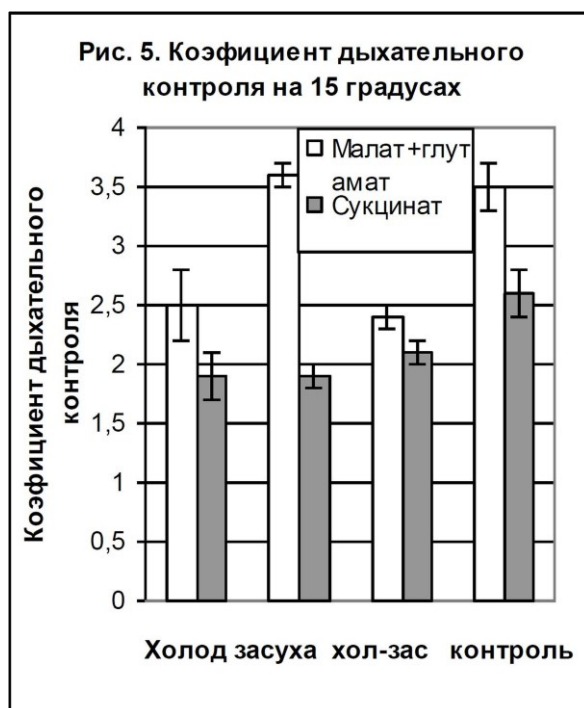
Таким образом, видно, что понижение скорости окисления малата коррелировало с торможением роста эпикотилей в вариантах «засуха» и «холод-засуха» (рис. 2), при том, что величина ДК к этому периоду составляла приемлемые для растущего проростка значения (рис. 3).



Для выявления возможной адаптивной реакции к похолоданию у митохондрий [Lyons, Raison 1970], мы исследовали скорость дыхания митохондрий в состоянии 3 в условиях пониженной до 15 градусов температуры среды в ячейке. Результаты показа-

ли (рис. 4), что скорость дыхания в состоянии 3 при окислении малата была значительно подавлена и составляла во всех вариантах 50-60 натовов О/мин/мг белка. Скорость окисления сукцината в состоянии 3 была выше и различалась по вариантам: самая высокая была в варианте холод-засуха, она составляла 173 натома О/мин/мг белка, на холоде и засухе – в районе 100 натовов О/мин/мг белка.

Скорость окисления малата в состоянии 4 при 15 градусах снижалась, поэтому величина ДК оставалась в районе 2,5–3,5. Скорость окисления сукцината падала пропорционально падению скорости в состоянии 3. В результате ДК на сукцинате оказался практически одинаков во всех вариантах воздействия (рис. 5). Таким образом, видно, что скорость окисления НАД-зависимого субстрата не адаптировалась к пониженной температуре в результате воздействия неблагоприятных факторов на целое растение. Скорость окисления сукцината меньше страдала от дополнительного воздействия пониженной температуры на митохондрии в варианте холод-засуха (рис. 4). Однако величина ДК в условиях холода мало отличалась от результатов, полученных на 25 градусах на обоих субстратах (рис. 5).



Анализируя полученные данные, можно предположить более высокую чувствительность комплекса I митохондрий, чем комплекса II как при воздействии на целое растение, так и на выделенные митохондрии. Можно также сделать вывод, что система фосфорилирования меньше страдает от примененных воздействий, чем скорость окисления субстратов в состоянии 3. Из полученных данных также напрашивается вывод, что совместное влияние на растение двух факторов может привести к частичному нивелированию неблагоприятного влияния одного из них. Так, одно только похолодание понижает скорость окисления сукцината, а тем более неблагоприятна для этого процесса засуха, но при совместном действии этих факторов неблагоприятное действие холода фактически не добавляется к действию засухи.

#### Литература

Генерозова И.П., Маевская С.Н., Шугаев А.Г. Ингибирование метаболической активности митохондрий в этиолированных проростках гороха, подвергнутых водному

стрессу // Физиология растений, 2009. – 56. – С. 45-52.

Atkin O.K., Edwards E.J., Loveys B.R. Response of Root Respiration to Changes in Temperature and Its Relevance to Global Warming // New Phytologist, 2000. – 147. – P. 141-154

Lyons J.M., Raison J.K. Oxidative Activity of Mitochondria Isolated from Plant Tissues Sensitive and Resistant to Chilling Injury // Plant Physiology, 1970. – 197. – P. 386-389.

## **КОМПОНЕНТЫ АСКОРБАТ-ГЛУТАТИОНОВОГО ЦИКЛА ДРЕВЕСНЫХ ИНТРОДУЦЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО СТРЕССА**

С.В. Горелова, Е.В. Меньшикова, А.Ю. Харихонов

Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого,  
Тула, gsvphysiology08@rambler.ru

В настоящее время в зеленом строительстве городов значительно расширен ассортимент видов и сортов древесных растений, большая часть которых представлена интродуцентами. В условиях города и новой климатической зоны на интродуцируемые растения действует целый комплекс неблагоприятных факторов, главными из которых являются климатические и антропогенные. В промышленно-развитых урбозкосистемах антропогенный фактор выходит на первый план в связи с интенсивным техногенным загрязнением атмосферного воздуха пылевыми частицами и аэрозольными выбросами, компонентами которых являются тяжелые металлы, а также оксидами азота и серы и рядом органических компонентов, занимающих в ряду стресс-факторов одно из первых мест; изменением структуры, кислотности и химического состава почв.

Комплексное воздействие токсикантов воздуха и почвы приводит к развитию окислительного стресса у растений. В нейтрализации активных форм кислорода (АФК) значительная роль отводится системе скоординированных реакций антиоксидантной системы растений. Важным фактором устойчивости растений является поддержание высокого уровня низкомолекулярных антиоксидантов - аскорбиновой кислоты (АК) и глутатиона (GSH), которые не только подставляют себя под удар радикалов и перекиси, но и участвуют в восстановлении других антиоксидантов (АО), а также являются коферментами, регулирующими работу ферментов [Чупахина, 1997, 2009; Кения и др., 1993; Меньшикова, Зенков, 1993; Чиркова, 2002]. Важное, а иногда первостепенное значение придается работе ферментов – АО, ведущее место в инактивации АФК занимают пероксидазы [Полесская, 2007].

Нами изучено содержание и активность (аскорбатпероксидаза) компонентов аскорбат-глутатионного цикла в листьях ряда древесных интродуцентов г. Тулы. Отбор проб проводился в зеленых насаждениях вдоль двух центральных автодорог города (проспект Ленина, Красноармейский проспект) и в контрольной зоне - центральном парке культуры и отдыха им. П.П. Белоусова. Содержание пылевых частиц в воздухе опытных точек превышало ПДК для суточных выпадений в 2-3,5 раза, содержание железа в воздухе улица Советская-Красноармейский проспект составляло 27 мг/м<sup>3</sup>; почвы характеризовались высоким содержанием Fe, As, Rb, La, Ce, Th. Анализ проб проводили на свежем растительном (листья, верхушечные побеги – можжевельник, туя) материале в период активной вегетации растений (июль) в день пробоотбора. Активность аскорбатпероксидазы (АПО) определяли по остатку неокисленной АК [Физиологические и биохимические методы..., 2000], содержание АК и GSH – титриметрическим методом с 0,001 н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола (аскорбиновая кислота) и йодата калия (восстановленный глутатион) [Грязнов, 2006].

Полученные данные показали высокое содержание АК (0,4-1,5 мг/г сырой массы) в листьях всех исследованных видов интродуцентов за исключением барбариса Тунберга (табл. 1).

**Таблица 1**

**Содержание и активность компонентов аскорбат-глутатионового цикла у древесных интродуцентов в условиях техногенного стресса (Тула, 2012)**

город	Точка пробоотбора	Содержание АК, мг/г сырой массы	Содержание глутатиона, мг/г	Активность аскорбатоксидазы, мг окисленной АК/г *мин
Туя западная <i>Thuja occidentalis</i>	контроль	0,55	0,63	0,88
	Автомобильной магистрали города	0,46	0,69	0,88
Чубушник венечный <i>Philadelphus coronarius</i>	контроль	0,87	3,76	1,19
	Автомобильной магистрали города	1,52	2,61	1,19
Можжевельник казацкий <i>Juniperus sabina</i>	контроль	0,50	0,31	0,50
	Автомобильной магистрали города	0,66	1,69	1,59
Карагана древовидная <i>Caragana arborescens</i>	контроль	0,44	1,23	0,97
	Автомобильной магистрали города	1,42	2,84	1,06
Гортензия древовидная <i>Hydrangaea arborescens</i>	контроль	0,73	1,15	0,84
	Автомобильной магистрали города	0,66	0,69	2,09
Барбарис Тунберга <i>Berberis thunbergii</i> <i>Atropurpurea</i>	контроль	0,07	2,61	0,81
	Автомобильной магистрали города	0,13	0,05	2,16
Спирея японская <i>Spiraea japonica</i>	контроль	1,32	3,68	0,78
	Автомобильной магистрали города	1,49	2,53	2,19

Содержание GSH в листьях контрольных образцов колебалось в пределах 0,4-3,6 мг/г и было максимально у чубушника венечного и спиреи японской. В листьях собранных вдоль автомобильных магистралей образцов содержание АК было больше во всех случаях на 12-33 % по отношению к контролю. Максимально концентрация АК увеличивалась у караганы древовидной – в 3 раза. Содержание GSH под влиянием автомобильной эмиссии повышалось у можжевельника казацкого и караганы древовидной. Для чубушника венечного, гортензии древовидной, барбариса Тунберга, спиреи японской характерно снижение уровня GSH в листьях при воздействии техногенного стресса, что может быть связано с его участием в обезвреживании вторичных метаболитов окислительного обмена, либо участием в восстановлении АК [Чиркова, 2002]. Активность АПО в условиях техногенного стресса была выше у можжевельника казацкого, гортензии древовидной, барбариса Тунберга, спиреи японской. Как видно из представленных результатов (табл. 1), низкий пул АК и GSH у гортензии, может быть обусловлен повышением активности АПО, расходуемой синтезируемой и восстанавливаемой GSH

аскорбат как субстрат. Отсутствие увеличения активности АПО в условиях техногенного стресса у растений автомагистральных посадок: караганы древовидной и чубушника венечного обусловлено генетически высоким уровнем синтеза АК и GSH и, по-видимому, ведущей ролью низкомолекулярных антиоксидантов в обезвреживании АФК у этих видов.

Таким образом, комплекс адаптивных реакций изученных древесных интродуцентов сводится к следующим группам:

1. Основным компонентом АОС являются низкомолекулярные антиоксиданты – АК и GSH, их уровень исходно высок и повышается при стрессе, активность АПО остается на уровне контроля: чубушник венечный, карагана древовидная

2. При техногенном стрессе повышается уровень АК и активность АПО, при снижении концентрации GSH, который, вероятно, выполняет функцию восстановления АК: спирея японская, барбарис Тунберга *Atropurpurea*

3. В условиях стресса, вызванного автотранспортной эмиссией, повышается концентрация АК, GSH, растет активность АПО, т.е. аскорбат-глутатионовый цикл является ведущим в инактивации АФК: можжевельник казацкий

4. В условиях техногенного стресса исчерпывается пул низкомолекулярных антиоксидантов АК и GSH, одновременно растет активность АПО: гортензия древовидная

5. Активность изученных компонентов аскорбат-глутатионового цикла остается без изменений при техногенном стрессе, вызванном автомагистральной эмиссией: туя западная (требуется дополнительное изучение других компонентов АОС, при отсутствии их активности – данный факт объясняет высокое выпадение растений в посадках).

#### Литература

Грязнов В.П. Руководство к лабораторным и экспериментальным работам по физиологии растений. - Белгород: БелГУ, 2006. - 120 с.

Кения М.В. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе/ М.В. Кения, А.И. Лукаш, Е.П. Гуськов // Успехи современной биологии, 1993. Т.113 № 4. С. 456-470.

Меньшикова Е.Б. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов / Е.Б. Меньшикова, Н.К. Зенков // Успехи современной биологии, 1993. Т.113 № 4. С. 442-455.

Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. – М.: Изд-во КДУ, 2007. –140 с.

Физиологические и биохимические методы анализа растений: практикум/ Калининград. ун-т. Авт-сост. Г.Н. Чупахина– Калининград. 2009. С.22-23.

Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во С.-Петербургского ун-та, 2002. – 430 с.

Чупахина Г.Н. Система аскорбиновой кислоты растений. Калининград, 1997.

Чупахина Г.Н. Абиотические факторы, определяющие пул антиоксидантов растений // Вестник Российского государственного университета им. И.Канта. 2009. Вып. 7. С. 55-63.

## МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ЭНЕРГОРАССЕИВАЮЩИЕ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР

О.И. Грабельных, О.А. Боровик, Т.П. Побежимова, В.К. Войников

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, grolga@sifibr.irk.ru

Низкие температуры являются одним из важных факторов внешней среды, ограничивающих продуктивность и распространение растений во всем мире. Исходя из зонального распределения температур (существования пяти разнокачественных температурных зон, специфичных для генотипа), влияние низких температур на растения осуществляется в пределах температурных зон холодого закаливания и холодого повреждения [Титов и др., 2006]. Температуры из зоны закаливания вызывают различные физиолого-биохимические и молекулярно-генетические изменения, в результате чего растения приспосабливаются к последующему действию повреждающих температур (холодовая акклимация). Повышение устойчивости может происходить и при краткосрочном действии повреждающих температур или в их последствии [Титов и др., 2006]. Длительное и/или интенсивное действие повреждающих температур на растения приводит к их гибели и вызвано, главным образом, фазовым переходом липидов мембран из жидкокристаллического состояния в твердый гель, а при действии отрицательных температур на теплолюбивые и холодоустойчивые растения - повреждением клеток кристаллами льда и обезвоживанием протоплазмы [Трунова, 2007]. Мембранные системы клетки одними из первых реагируют на понижение температуры, а в качестве сенсорного компонента мембран, по-видимому, выступают липиды, от состава и соотношения которых зависит вязкость мембран, определяющая структуру и функции мембранных белков и, таким образом, активность мембраносвязанных процессов. Быстрое изменение состава липидов мембран при изменении условий осуществляется за счет распада одних липидов и замещения их другими в процессах синтеза [Тарчевский, 2001]. Высвобождение свободных жирных кислот (СЖК), по-видимому, в результате действия фосфолипазы А<sub>2</sub> на мембранные фосфолипиды, приводит к изменению энергетической активности митохондрий растений [Войников, 2011]. С использованием бычьего сывороточного альбумина (БСА) показана роль СЖК в разобщении окислительного фосфорилирования митохондрий озимых злаков, как в контроле, так и после охлаждения [Войников, 2011]. Способность СЖК разобщать процессы окисления и фосфорилирования в митохондриях растений тем выше, чем больше в них двойных связей [Грабельных и др., 2009].

Кроме СЖК у растений регулируют степень сопряжения окислительного фосфорилирования в митохондриях альтернативная цианидрезистентная оксидаза (АО), разобщающие белки, АТФ/АДФ-антипортер, митохондриальный АТФ-чувствительный калиевый канал (миток<sub>АТР</sub> канал) и открытие высокопроницаемой митохондриальной поры (РТР – Permeability Transition Pore) [Грабельных и др., 2006; Agragaus et al., 2002; Millenaar, Lambers, 2003; Laus et al., 2011]. Активность этих систем, так или иначе, регулируется содержанием СЖК: СЖК ингибируют активность АО [Sluse et al., 1998] и активируют рUCP-подобные (pUCP – plant Uncoupling Protein) белки и АТФ/АДФ-антипортер [Грабельных и др., 2009], миток<sub>АТР</sub> канал [Laus et al., 2011] и открытие РТР [Agragaus et al., 2002]. «Внешние» и «внутренние» ротенон-нечувствительные НАД(Ф)Н дегидрогеназы (НАД(Ф)Н дегидрогеназы II типа) растений также участвуют в регуляции процесса окислительного фосфорилирования митохондрий [Rasmusson et al., 2004], однако о влиянии СЖК на их активность неизвестно. Являясь компонентами дыхательной цепи, НАД(Ф)Н дегидрогеназы II типа и АО шунтируют  $\Delta\mu\text{H}^+$ -генераторы на начальном (комплекс I) и конечном (комплексы III и IV) участках цепи, соответ-

ственно, и не вносят своего вклада в генерацию протонного градиента. Шунтирование свободным окислением одного или двух пунктов  $\Delta\mu\text{H}^+$ -генератора дыхательной цепи, по мнению В.П. Скулачева, может сдвинуть равновесное соотношение  $[\text{АТФ}]/[\text{АДФ}] \cdot [\text{Фн}]$  в сторону синтеза АТФ, который образуется за счет протонного потенциала, поддерживаемого оставшимся  $\Delta\mu\text{H}^+$ -генератором [Скулачев, 1989]. В отличие от АО и альтернативных НАД(Ф)Н дегидрогеназ, УСР-подобные белки, АТФ/АДФ-антипортер и мито $\text{K}_{\text{АТР}}$  канал катализируют протонную проводимость через митохондриальные мембраны и рассеивают протонный градиент. При этом мито $\text{K}_{\text{АТР}}$  канал катализирует электрофоретический унипорт  $\text{K}^+$  через внутреннюю мембрану, а его взаимодействие с  $\text{K}^+/\text{H}^+$ -антипортером позволяет осуществлять калиевый цикл –  $\text{H}^+$  выбрасываются дыхательной цепью в межмембранное пространство и возвращаются в матрикс в обход АТФ-синтазы в антипорте с  $\text{K}^+$  [Pastore et al., 2010]. Некоторое повышение протонной проводимости внутренней мембраны митохондрий представляет собой механизм «мягкого» разобщения и способно снизить генерацию  $\text{O}_2^{\bullet-}$  дыхательной цепью [Скулачев, 1994]. Существует гипотеза, что некоторые УСР животных способны транспортировать из матрикса митохондрий в межмембранное пространство гидроперекиси жирных кислот, защищая мДНК и белки матрикса [Blokhina and Fagerstedt, 2010]. АО и НАД(Ф)Н дегидрогеназы II типа наряду с регуляцией уровня  $\text{O}_2^{\bullet-}$  контролируют и уровень оксида азота в клетке [Blokhina and Fagerstedt, 2010]. Когда механизм «мягкого» разобщения недостаточен, чтобы снизить генерацию активных форм кислорода (АФК) в митохондриях, то происходит открытие РТР, ведущую роль в изменении проницаемости митохондриальных мембран при этом играют  $\text{Ca}^{2+}$ , СЖК и АФК [Belosludtsev et al., 2006].

Анализ литературных данных и результаты наших исследований показывают, что энергорассеивающие системы митохондрий вносят значительный вклад в ответную реакцию растений на действие низких температур, при этом их активность зависит от интенсивности и продолжительности воздействия, определяется липидным и жирнокислотным составом мембран, регулируется содержанием СЖК, АФК, продуктов перекисного окисления липидов,  $\text{Ca}^{2+}$  и, возможно, другими факторами. Термогенез в генеративных тканях представителей некоторых семейств (*Araceae*, *Nelumbonaceae* и др.), обусловленный активностью АО, делает процесс цветения независимым от температуры окружающей среды [Скулачев, 1989]. Теплопродукция посредством АО и разобщающих белков может играть защитную роль у озимых злаков при холодовом стрессе [Войников, 2011]. Повышение уровня транскриптов, содержания белка, активности АО и ее антиоксидантная функция под действием низких положительных температур показаны на различных растительных объектах. Гораздо меньше работ посвящено изучению функционирования у растений при низкой температуре рУСР, АТФ/АДФ-антипортера, альтернативных НАД(Ф)Н дегидрогеназ и совсем отсутствуют данные для мито $\text{K}_{\text{АТР}}$  канала. Показано, что при холодовом воздействии вместе с индукцией одного из генов, кодирующих АО - *Aox1a* может происходить ко-экспрессия генов, кодирующих «внутреннюю» и «внешнюю» НАДН дегидрогеназы - *Nda2* и *Ndb2*, соответственно [Elhafez et al., 2006]. Хотя функции альтернативных НАД(Ф)Н дегидрогеназ у растений точно не установлены, возможно, они могут быть сходными с таковыми для АО. Согласно нашим данным поддержание стабильной работы дыхательной цепи на разных этапах холодового закалывания этиолированных проростков озимой пшеницы обеспечивается функционированием АО, разобщающих белков, альтернативных НАД(Ф)Н дегидрогеназ и АТФ/АДФ-антипортера, совместное или последовательное действие которых позволяет не допускать избыточного образования АФК в митохондриях. Дальнейшие исследования должны способствовать раскрытию всей многогранности функций отдельных энергорассеивающих систем митохондрий в клетках расте-



ний, в том числе при стрессе.

#### Литература

Войников В.К. Митохондрии растений при температурном стрессе. – Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2011. – 163 с.

Грабельных О.И., Колесниченко А.В., Побежимова Т.П., Зыкова В.В., Войников В.К. Механизмы и функции нефосфорилирующего транспорта электронов в дыхательной цепи митохондрий растений // Физиология растений, 2006. - Т.53, №3. - С.468-480.

Грабельных О.И., Пивоварова Н.Ю., Побежимова Т.П., Колесниченко А.В., Войников В.К. Роль свободных жирных кислот в энергетическом метаболизме митохондрий проростков озимой пшеницы // Физиология растений, 2009. - Т.56, №3. - С.369-381.

Скулачев В.П. Снижение внутриклеточной концентрации  $O_2^{\bullet-}$  как особая функция дыхательных систем клетки // Биохимия, 1994. - Т.59. - С.910-912.

Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. – М.: Наука, 1989. – 564 с.

Тарчевский И.А. Метаболизм растений при стрессе (избранные труды). – Казань: ФЭН, 2001. – 448 с.

Титов А.Ф., Акимова Т.В., Таланова В.В., Топчиева Л.В. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. - М.: Наука, 2006. - 143 с.

Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс. – М.: Наука, 2007. – 54 с.

Argpaug S., Rawyler A., Braendle R. Occurrence and characteristics of the mitochondrial permeability transition in plants // J. Biol. Chem., 2002. – V.277. – P.1780-1787.

Belosludtsev K., Saris N.E., Anderson L.C., Belosludtseva N., Agafonov A., Sharma A., Moshkov D.A., Mironova G.D. On the mechanism of palmitic acid-induced apoptosis: the role of a pore induced by palmitic acid and  $Ca^{2+}$  in mitochondria // J. Bioenerg. Biomembr., 2006. - V.38. - P.113-120.

Blokhina O., Fagerstedt K.V. Reactive oxygen species and nitric oxide in plant mitochondria: origin and redundant regulatory systems // Physiol. Plantarum, 2010. – V.138. – P.447-462.

Elhafez D., Murcha M.W., Clifton R., Soole K.L., Day D.A., Whelan J. Characterization of mitochondrial alternative NAD(P)H dehydrogenases in Arabidopsis: interorganelle location and expression // Plant Cell Physiol., 2006. – V.47. – P.43-54.

Laus M.N., Soccio M., Trono D., Liberatore M.T., Pastore D. Activation of the plant mitochondrial potassium channel by free fatty acids and acyl-CoA esters: a positive defence mechanism in the response to hyperosmotic stress // J. Exp. Bot., 2011. – V.62. – P.141-154.

Millenaar F.F., Lambers H. The alternative oxidase: *in vivo* regulation and function // Plant Biol., 2003. – V.5. – P.2-15.

Rasmusson A.G., Soole K.L., Elthon T.E. Alternative NAD(P)H dehydrogenases of plant mitochondria // Annu. Rev. Plant Biol., 2004. – V.55. – P.23-39.

Sluse F.E., Almeida A.M., Jarmuszkiewicz W., Vercesi A.E. Free fatty acids regulate the uncoupling protein and alternative oxidase activities in plant mitochondria // FEBS Lett., 1998. - V.433. - P.237-240.

## АДАПТАЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ СЕЗОННО-ВЛАЖНОГО ТРОПИЧЕСКОГО ЛЕСА К ПОВЫШЕННОЙ ОСВЕЩЕННОСТИ, ФОРМИРУЮЩЕЙСЯ ПОСЛЕ ОБРАЗОВАНИЯ ЛЕСНЫХ «ОКОН»

Е.В. Евдокимова<sup>1</sup>, А.О. Новичонок<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт леса КарНЦ РАН, Петрозаводск, evdokimova1@inbox.ru

<sup>2</sup>Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, artnovich@inbox.ru

Растения подлеска и подрост в тропическом лесу адаптированы к условиям низкой освещенности [Zhang et al., 2000; Szarzynsk, Anhuf, 2001]. Усиливающаяся антропогенная нагрузка и естественные процессы, вызывающие формирование лесных «окон», приводят к необходимости адаптации растений к повышению освещенности. Чтобы оценить возможности растений участвовать в сукцессионных процессах и понять динамику изменения лесного покрова после формирования лесных «окон», необходимо знать адаптационные возможности растений. Одной из важнейших характеристик, позволяющих растениям выживать в изменившихся условиях, является адаптация фотосинтетического аппарата. Величина акклиматизации, которая позволяет видам реагировать на различия в освещенности, может быть определена как пластичность [Markestijn et al., 2006]. Как известно, свойство пластичности зависит от вида растений [Poorter et al., 2005] и может приводить к повышению продуктивности растений в изменившихся условиях среды.

Целью работы было выявление степени пластичности у растений, различающихся по отношению к свету, а также определить какие свойства фотосинтетического аппарата являются наиболее важными при адаптации растений к повышенной освещенности.

Исследование было проведено в южном Вьетнаме в национальном парке «Кат Тиен» (11° с.ш., 107° в.д.). В качестве объектов исследования были выбраны 10 видов растений:

*Lagerstroemia calyculata* (Lythraceae) - подрост верхнего яруса;

*Pterospermum diversifolium* (Sterculiaceae), *Hibiscus* sp. (Malvaceae), *Dalbergia tannosa* (Papilionaceae), *Ohrocarpus* sp. (Clusiaceae) – подрост второго-третьего ярусов;

*Phyllanthus* sp. (Euphorbiaceae), *Ardisia* sp. (Myrsinaceae), *Anaxagorea* sp. (Annonaceae) – растения нижнего яруса;

*Calamus dioicus* (Arecaceae), *Ancistrocladus tectorius* (Ancistrocladaceae) – лианы.

Солнечные и теневые растения были выбраны в условиях различной степени сомкнутости полога над ними, которая варьировала от 10 до 74%.

Нами были изучены следующие свойства фотосинтетического аппарата: содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилла а (ХЛ а), хлорофилла b (ХЛ b), каротиноидов (car), их соотношения (ХЛ а/b, ХЛ/car), доля ХЛ b в светособирающем комплексе (ССК); биометрические показатели: длина, ширина листовой пластинки, степень вытянутости листовой пластинки (отношение длины к ширине), содержание сухого вещества в листе (LDMC) и удельная площадь листовой поверхности (SLA). Пигменты были экстрагированы этанолом, их содержание определялось на спектрофотометре (APEL, PD-303, Япония) по общепринятой методике (Lichtenthaler, Wellburn, 1983). Количество ХЛ b в ССК было рассчитано с учетом того, что он весь находится в ССК и соотношение ХЛ а/b в ССК равно 1,2 (Маслова, 2009). Индекс пластичности был рассчитан как разница между максимальным значением свойства в одном варианте условий и минимальным значением в другом, деленная на максимальное значение и умноженная на 100% [Valladares et al., 2000].

Средняя пластичность фотосинтетического аппарата, рассчитанная по всем изу-

ченным свойствам, была сходной у растений 1 и 2-3 ярусов и составила 19, 9 и 16,9% соответственно. У лиан средняя пластичность равнялась 12,5%. Максимальная средняя пластичность свойств фотосинтетического аппарата по отношению к свету была найдена для подростка верхнего яруса, минимальная – для растений нижнего яруса (9,8%). Полученные данные совпадают с данными литературы по другим видам. Так, растения полого леса должны обладать самой высокой степенью пластичности, т.к. они начинают свой рост в тени подлеска, а заканчивают в условиях полной освещенности [Poorter et al., 2005]. Markesteijn с коллегами (2006) предположили, что тенетолерантные виды, проводящие их жизненный цикл в условиях низкой доступности ресурсов в условиях подлеска с незначительным положительным балансом CO<sub>2</sub>, должны иметь меньший акклиматизационный потенциал и меньшую пластичность, что подтвердилось и у наших видов (*Phyllanthus sp.*, *Ardisia sp.*, *Anaxagorea sp.*).

В динамике адаптации растений к условиям высокой освещенности наблюдалась перестройка фотосинтетического аппарата, связанная с защитными механизмами против «лишнего» света: уменьшение содержания ХЛ а и b, увеличением соотношения ХЛ a/b, уменьшение соотношения ХЛ/cag и доли ХЛ b в ССК. Однако уровень пластичности по этим свойствам различался. Bongers и Popma (1988) сообщили, что свойства листьев, которые имеют наибольшую пластичность, являются наиболее важными для функционирования листьев в различных световых средах. У *Lagerstroemia sp.* и лиан максимальная пластичность была отмечена по содержанию ХЛ а и ХЛ b (29.6, 37.6% и 22.9, 25.6% у *Lagerstroemia sp.* и лиан соответственно). У растений нижнего яруса самая высокая пластичность была найдена по содержанию ХЛ а (22.3%), у растений 2-3 ярусов по длине и ширине листовой пластинки (18.8 и 17.5% соответственно). У растений всех групп была отмечена низкая пластичность по LDMC (3.7, 4.9, 5.5 и 5.4% у подростка верхнего, 2-3, нижнего ярусов и лиан соответственно) и доли ХЛ b в светособирающем комплексе (7.6, 5.7, 4.3, 3.5 у подростка верхнего, 2-3, нижнего ярусов и лиан соответственно).

Таким образом, растения разных ярусов отличаются по способности адаптироваться к изменению освещенности. Максимальной способностью была найдена для подростка верхнего яруса, минимальная – для растений нижнего яруса. Свойства фотосинтетического аппарата, которые являются наиболее важными при адаптации к освещенности, также различаются у представителей разных экологических групп. Для *Lagerstroemia sp.*, растений нижнего яруса и лиан наиболее важными при адаптации к свету является содержание ХЛ а и ХЛ b. Растения 2-3 ярусов адаптируются к изменению освещенности в первую очередь путем изменения длины и ширины листовой пластинки. Также важную роль в адаптации этой группы растений играет содержание ХЛ b.

*Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта №12-04-31234.*

#### Литература

Bongers F., Popma J. Is exposure-related variation in leaf characteristics of tropical wet forest species adaptive? In M. J. A. Werger, P. van der Aart, H. During, and J. T. A. Verhoeven [eds.], Plant form and vegetation structure: adaptation, plasticity, and relation to herbivory. SPB Academic Publishing, The Hague, Netherlands. 1988. P. 191–200.

Lichtenthaler H.K., Wellburn A.L. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents // Biochem. Soc. Trans. 1983. Vol. 11 P. 591-592.

Markesteijn L., Lourens P., Frans B. Light-dependent leaf trait variation in 43 tropical dry forest tree species // American Journal of Botany. 2007. Vol. 94(4). P. 515–525.

Poorter L., Bongers F., Sterck F. J., Wöll H. Beyond the regeneration phase: differentiation of height–light trajectories among tropical tree species // Journal of Ecology. 2005. Vol.

93. P. 256-267.

Szarzynsk J., Anhuif D. Micrometeorological conditions and canopy energy exchange of a neotropical rain forest (Surumoni-Crane Project, Venezuela) // *Plant Ecol.* 2001. Vol. 153. P. 231-239.

Valladares F., Wright J.S., Lasso E., Kitajima K., Pearcy R. W. Plastic phenotypic responses to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest // *Ecology.* 2000. Vol. 81. P. 1925–1936.

Zhang Y.P., Ma Y.X., Liu Y.H., Zhang K.Y. Horizontal thermal characteristics at forest edges in a calm tropical area of China. // *Chin. J. appl. Ecol.* 2000. Vol. 11. P. 205-209.

## **ИЗМЕНЕНИЕ БИОМАССЫ ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩЕГО БАЗИДИОМИЦЕТА *CORIOLUS HIRSUTUS* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СРЕДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ**

Е.В. Емельянова

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,  
Пушино, elenvem@ibpm.pushchino.ru

Базидиальные дереворазрушающие грибы широко применяются в биотехнологии при решении хозяйственных и экологических проблем. Дереворазрушающие базидиомицеты используют для утилизации различных лигноцеллюлозных отходов с целью обогащения их белком, для получения ценных биологически активных веществ, ферментов и т.д. В Японии издавна выращиваются и используются в пищу плодовые тела гриба *Lentinus edodes* (шиитаки). В дальневосточных странах для культивирования дереворазрушающих грибов довольно часто применяют метод “природных плантаций”.

Глубинное культивирование базидиомицетов имеет свои специфические особенности. Выращивание мицелия в глубинных условиях связано с культивированием уже более высокоорганизованного продуцента, чем при биосинтезе одноклеточных. Отдельные клетки гриба не могут существовать и выполнять необходимые физиологические функции автономно, независимо друг от друга, как, например, дрожжи.

Одним из наиболее важных условий глубинного культивирования является степень аэрации среды и интенсивность перемешивания. По имеющимся данным, ни один из базидиомицетов не является облигатным анаэробом. Дереворазрушающие грибы обычно развиваются на древесине, имеющей относительную влажность не более 60%. Поэтому они более чувствительны к недостатку кислорода, чем несовершенные грибы.

Выращивание дереворазрушающего базидиомицета *Coriolus hirsutus* проводили в глубинных условиях в колбах на качалке на минеральной среде, содержащей в качестве единственного источника углерода и энергии пентозный гидролизат древесины [Емельянова, 2005]. Уровень аэрации в экспериментах изменяли от 0,5 до 2.0 гО<sub>2</sub>/(л·час), уменьшая объём среды в колбах. Кроме аэрации, при этом изменялся характер перемешивания и его интенсивность.

При культивировании базидиомицетов с недостаточной аэрацией обычно связывают образование шаровидных колоний. В случае *Coriolus hirsutus* интенсивность аэрации не оказывала существенного влияния на морфологию роста базидиомицета. Во всех случаях культура росла в виде пеллет. При недостатке аэрации дисперсный рост наблюдался одновременно с пеллетами.

На морфологию, физиологическую активность мицелия и качество образуемой биомассы влияла интенсивность перемешивания среды. При перемешивании, которое обеспечивало уровень аэрации 2.0-1.2 гО<sub>2</sub>/(л·час), культура росла в виде пеллет. Наблюдалось образование плотных пеллет, полых внутри из-за автолиза гиф; содержание

протеина в них было ниже обычного. Кроме того, пеллеты были гладкие, то есть обладали низкой физиологической активностью. Дереворазрушающие базидиомицеты, как и другие мицелиальные грибы, характеризуются апикальным ростом. Поэтому даже большое количество биомассы, внесённое в виде гладких мицелл, не может обеспечить достаточную скорость роста из-за небольшой активной поверхности.

При снижении интенсивности перемешивания до уровня, обеспечивающего аэрацию 1.2 - 0.9 гО<sub>2</sub>/(л·час), было отмечено образование мелких пушистых и рыхлых пеллет. Они обладали большей физиологической активностью, так как несли на своей поверхности больше точек роста. Увеличение количества точек роста, в свою очередь, ускоряло рост гриба в глубинной культуре. При дальнейшем снижении интенсивности перемешивания, которое приводило к недостатку кислорода в среде - аэрации ниже 0.9 гО<sub>2</sub>/(л·час), наряду с пушистыми и рыхлыми мицеллами в культуральной жидкости присутствовали скопления обрывков гиф в виде хлопьев.

Таким образом, при культивировании в качалочных колбах на круговой качалке на физиологическую активность мицелия *Coriolus hirsutus* в большей степени оказывала влияние интенсивность перемешивания, а не степень аэрации среды. При интенсивном перемешивании образовывались более мелкие и более компактные пеллеты, обладающие низкой физиологической активностью.

Было исследовано влияние смеси синтетических углеводов, получаемых поликонденсацией формальдегида (формоза), на морфологию роста и физиологическую активность мицелия. Смесь вносили на стадии глубинного посевного в концентрации 0.05 г/л, что приводило не к увеличению концентрации мицелия в посевном материале, а к изменению его свойств.

Смесь синтетических углеводов не влияла на элементный состав, восстановленность мицелия и содержание в нём углерода. В отсутствие формозы эмпирическая формула биомассы была СН<sub>1.54</sub>О<sub>0.515</sub>Н<sub>0.126</sub>, восстановленность – 4.13 и содержание углерода – 45.74%. Для среды с формозой это показатели были, соответственно, СН<sub>1.54</sub>О<sub>0.517</sub>Н<sub>0.125</sub>, 4.13 и 45.60%.

Влияние смеси синтетических углеводов на морфологию грибного мицелия проявлялось в следующем. Во-первых, в присутствии формозы большая часть мицелия (до 50%) росла в виде хлопьев и отдельных веточек, диаметр мицелл не превышал 2 мм. Таким образом, возрастала степень дисперсности мицелия, он содержал значительно больше точек апикального роста. Без формозы рост происходил в виде мицелл не меньше 3 мм в диаметре. В них гифы были ограничены в пространстве и метаболически менее активны из-за ограниченной диффузии в центр пеллет.

Во-вторых, в среде с формозой на мицелии возникали многочисленные клеточные перегородки и боковые ответвления различной формы и длины, многократно разветвлённые гифы, образующие так называемые “ведьмины метлы”; было отмечено обильное образование пряжек, множественных пряжек, чаще встречались “медальонные пряжки”, пряжки, прорастающие в боковые гифы. Хотя, по литературным данным [Trinci, 1984], септирование мицелия и не влияет на процессы ветвления, но септа определяет местоположение бокового ветвления на гифе. Известно также, что в росте гиф принимают участие как ферменты, отвечающие за синтез, так и литические ферменты [Bartnicki-Garcia, 1972]. Апикальный рост, таким образом, это тонкий механизм баланса между процессами синтеза и лизиса. Было обнаружено, что смесь синтетических углеводов увеличивает проницаемость клеточных стенок.

Очевидно, механизм действия формозы основан на следующем. Вследствие активации литических ферментов, синтетические моносахариды способствуют увеличению частоты бокового ветвления и, таким образом, увеличивают количество апикальных точек роста, что делает мицелий физиологически более активным.

Известно, что рост в виде пеллет различного размера отрицательно влияет на скорость роста, физиологическую активность и качество образуемой биомассы. Поэтому при глубинном культивировании возникает проблема получения гомогенного посевного мицелия. Свойство формозы, применяемой в незначительных количествах, увеличивать дисперсность мицелия, повышать количество точек роста биомассы представляет большой практический интерес.

Для экспрессного определения прироста биомассы гриба ранее была предложена формула  $\Delta X = 14.3A + B$ , где  $\Delta X$  – прирост биомассы гриба, г/л;  $A$  – количество потреблённого азота, г/л;  $B$  – зольность биомассы, г/л [Емельянова, 1996]. Было установлено, что зольность биомассы определяется, главным образом, присутствием в среде солей, образующихся при нейтрализации гидролизата. В случае традиционной двухступенчатой нейтрализации аммиачной водой и окисью кальция, после удаления осадка сульфата кальция в среде оставалось значительное количество  $\text{CuSO}_4$ . Сульфат кальция сорбировался биомассой, перегружая её зольными компонентами. Зольность в этом случае составляла около 2 г/л.

Вместо оксида кальция был использован гидроксид бария, растворимость сернокислых солей которого на три порядка ниже, чем растворимость сульфата кальция. Качественная реакция на присутствие ионов бария в среде была отрицательной. Осадок сульфата бария практически полностью удалялся из гидролизата. Это позволило снизить зольность биомассы до 0.5 – 0.6 г/л, без снижения прироста органического вещества мицелия. При использовании едкого натра в качестве нейтрализующего агента гидролизат был отягощён растворимыми солями сульфата натрия. В этом случае зольность биомассы также не превышала 0.6 г/л, но при снижении органического вещества на 10%. Известно, что сульфат бария нетоксичен для организма человека и даже применяется в медицине в качестве рентгеноконтрастного вещества (ядовиты только растворимые соли). Что касается сульфата натрия, то он издавна применяется в качестве слабительного. Поэтому, в зависимости от целей культивирования может быть применён один из предложенных способов нейтрализации гидролизата.

Была проведена оценка физиологических параметров роста дереворазрушающего базидиомицета *Coriolus hirsutus* на гидролизате древесины с использованием теории материально-энергетического баланса. Энергетическая эффективность роста *Coriolus hirsutus* на пентозном гидролизате древесины была достаточно высока -  $\eta_{x/s}=0.682$ . Она превышала энергетические выходы, устойчиво достигаемые в экспериментах на глюкозе с различными микроорганизмами (в среднем не выше 60%), и была сравнима с известным из литературы энергетическим выходом, полученным при культивировании растительных клеток – *Catharantus roseus* L. (0.717). При глубинной ферментации базидиомицета распределение потреблённого субстрата между конструктивным и энергетическим обменами было следующим: 68.2% субстрата шло на конструктивный обмен, а 31.8% - включалось в энергетический. Согласно данным Степановой и Мухина [Степанова, 1979], при твёрдофазной ферментации древесины грибами рода *Coriolus* наблюдается обратная зависимость: 20% субстрата - на конструктивный обмен, а 77% - на энергетический. Таким образом, эффективность глубинного культивирования дереворазрушающего базидиомицета *Coriolus hirsutus* на пентозном гидролизате древесины сравнима с культивированием клеток растений и превосходит эффективность твёрдофазного культивирования на древесных остатках.

#### Литература

Емельянова Е.В. Эффективность роста дереворазрушающего базидиомицета *Coriolus hirsutus* на среде с пентозным гидролизатом древесины // Микробиология, 1996. - Т. 65, № 3. - С. 313-317.

Степанова Н.Т., Мухин В.А. Основы экологии дереворазрушающих грибов. – М.: Наука, 1979. – 100 с.

Bartnicki-Garcia S., Lippman t. The bursting tendency of hyphal tips of fungi: presumptive evidence for a delicate balance between wall synthesis and wall lysis in apical growth // J Gen. Microbiol., 1972. – V.73, №3. – P. 487-500.

Emelyanova E.V. Effect of cultivation conditions on the growth of the basidiomycete *Coriolus hirsutus* in a medium with pentose wood hydrolyzate // Process Biochemistry, 2005. - V. 40, №. 3-4. - P. 1119-1124.

Trinci A.P.J. The duplication cycle and branching in fungi. In: Fungal wall and hyphal growth. – Cambridge University Press, 1978. – P. 319-358.

## **РОЛЬ СОД И ЛИПОКСИГЕНАЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ СОДЕРЖАНИЯ АФК В МИТОХОНДРИЯХ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ ПРИ ДЕФИЦИТЕ КИСЛОРОДА**

А.Н. Ершова, О.С. Бердникова

ВГПУ, Воронеж, aershova@vspu.ac.ru, olgaberdn@mail.ru

Одним из стрессовых факторов, которые действуют на растения, являются условия гипоксии (недостаток кислорода). Активные формы кислорода (АФК) образуются в растениях в условиях нормального метаболизма, но при действии гипоксии их концентрация может резко возрасти, что вызывает повреждение и даже гибель клеток [Ершова, 2011]. Одним из важных органоидов в клетках растений являются митохондрии, выполняющие функцию синтеза АТФ. При неполном восстановлении кислорода в ЭТЦ-дыхания возможно образование АФК, к которым относятся супероксидный анион-радикал, гидроксильный, гидроперекисный радикалы, пероксид водорода [Шугаев, 2011]. Поэтому одним из основных клеточных компартментов, участвующих в образовании АФК, являются митохондрии.

В митохондриях есть ферменты антиоксидантной защиты, которые стабилизируют уровень АФК в клетках. Одним из ферментов антиоксидантной защиты является супероксиддисмутаза (СОД) (КФ 1.15.1.1), которая катализирует превращение супероксидного анион-радикала до пероксида водорода, являющегося наиболее стабильным и долгоживущим типом АФК. Поэтому данному ферменту отводится важная роль в защите клеток и тканей растений от окислительной деструкции.

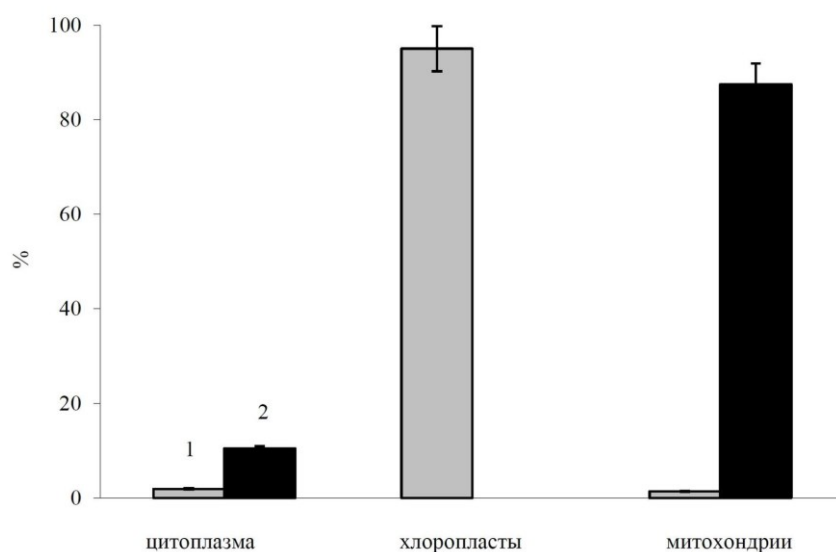
Кроме антиоксидантов в клетках растений есть ферменты, которые участвуют в регуляции содержания разных типов АФК. Одним из таких ферментов являются липоксигеназы (LOX) [Ильинская, 2000]. Растительные липоксигеназы (КФ 1.13.11.12), являются представителями диоксигеназ. Они интенсивно окисляют не только свободные, но и связанные в фосфолипидах полиненасыщенные жирные кислоты с образованием гидропероксидов, инициируя процессы образования АФК. Активность LOX в условиях дефицита кислорода может возрастать, что вызывает усиленное накопление АФК в различных клеточных компартментах. При этом было обнаружено, что LOX может присутствовать не только в хлоропластах и цитоплазме клеток, но и в митохондриях, что показано для ряда растений [Braidot et al., 2004]. Ранее нами было показано присутствие митохондриальной LOX и для клеток проростков гороха, что подтверждалось специфическим окрашиванием этого фермента на электрофореграмме.

В связи с этой целью работы являлось изучение роли ферментов СОД и липоксигеназы в регуляции содержания АФК в митохондриях растений, которые находились в условиях гипоксии и среды высоких концентраций диоксида углерода.

Объектом исследования служили 10 – дневные проростки гороха сорта «Рамон-

ский 77», выращенные методом гидропоники. Надземную часть проростков помещали в темновых условиях в газовые среды: воздух (контроль), азот и CO<sub>2</sub> (100%) на 3 – 24 часа [Ершова, 2011]. Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования и чистоту оценивали по активности маркерного фермента СДГ, активность которого определяли по методике [Ершова, 2012] и по присутствию хлорофилла. Активность СОД определяли спектрофотометрически по окислению ФМС в присутствии NADH [Прадедова, 2009], активность LOX – по окислению линолевой кислоты и рассчитывали с использованием коэффициента экстинкции 25000 М<sup>-1</sup> с<sup>-1</sup> [Ершова, 2011].

Как видно из данных, представленных на рис. 1 была выделена из растений гороха достаточно чистая фракция митохондрий, о чем свидетельствовала активность маркерного фермента СДГ, которая составляла 86% от общей активности клетки. Содержание хлорофилла в этой фракции составило 1,2%.

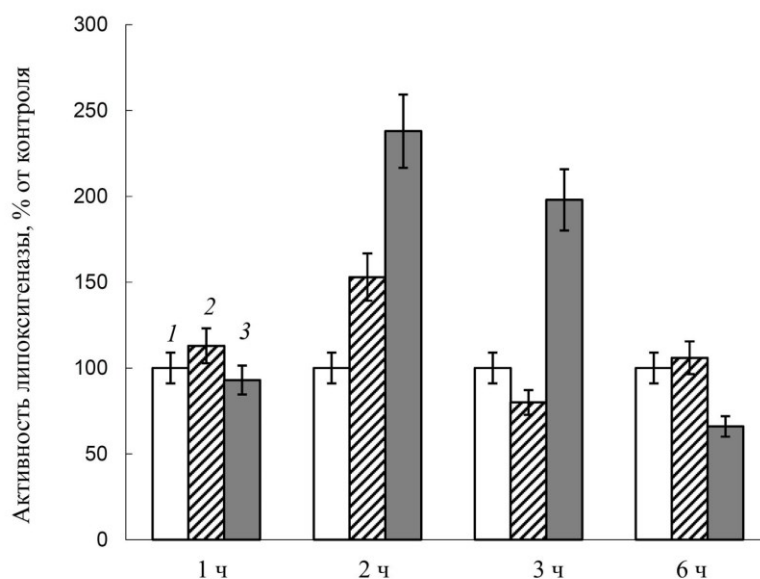


**Рис. 1** Определение чистоты выделенных фракций по хлорофиллу и СДГ.  
1 – хлорофилл, % 2 – СДГ, % от активности в общем гомогенате

На рис. 2 представлено изменение активности LOX в митохондриальной фракции растений гороха в условиях дефицита кислорода. Как видно из этих данных, активность LOX в условиях гипоксии начинала возрастать лишь через 2 часа, но затем снижалась и оставалась до конца опыта на уровне, близком к контролю. При действии CO<sub>2</sub> – среды на проростки увеличение активности LOX было еще более значительным и превышало уровень контрольных растений почти в 2,5 раза. Однако через 6 часов действия CO<sub>2</sub> – среды активность фермента существенно падала и становилась даже ниже уровня аэрируемых растений.

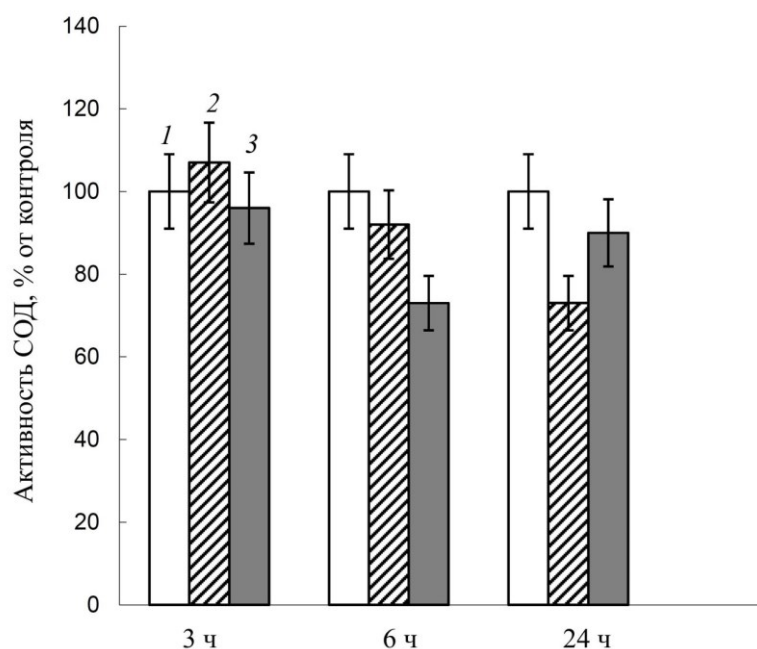
Наряду с ферментом LOX, исследовали активность антиоксидантного фермента СОД, участвующего в нейтрализации супероксидного анион-радикала в клетках растений. Как видно из данных представленных на рис. 3 активность СОД у неустойчивых к гипоксии проростков гороха менялась менее значительно. В первые часы гипоксического стресса активность СОД в митохондриальной фракции была близка к уровню контрольных растений. К 6 часам опыта активность фермента начинала падать, что особенно было заметно в митохондриях растений в условиях CO<sub>2</sub> – среды, где она снизилась почти на 30 %. К концу опыта (24 часа) активность фермента оставалась такой же низкой. Вероятно, низкая активность СОД на фоне повышения активности LOX и способствовала накоплению АФК в митохондриях неустойчивых к гипоксии растений гороха.





**Рис. 2** Активность липоксигеназы в митохондриальной фракции растений гороха в условиях дефицита кислорода. 1 – воздух (контроль), 2 – гипоксия, 3 – CO<sub>2</sub>-среда.

Полученные результаты хорошо согласуются с данными по определению содержания АФК в разных клеточных компартментах растений гороха в условиях дефицита кислорода [Ершова, 2012]. Было установлено [Ершова, 2011], что в митохондриальной фракции растений гороха при действии гипоксии концентрация супероксидного анион-радикала может возрастать на 54% через 6 часов. При этом концентрация пероксида водорода в этот период возрастала в большей степени, особенно при действии диоксида углерода, и превышала уровень контроля более чем в 2 раза.



**Рис. 3** Активность СОД в митохондриальной фракции растений гороха в условиях дефицита кислорода. 1 – воздух (контроль), 2 – гипоксия, 3 – CO<sub>2</sub>-среда.

В ходе проведенных опытов было показано, что в митохондриях клеток пророст-

ков гороха в условиях гипоксического стресса липоксигеназный путь способствует значительному накоплению различных типов АФК. При этом низкая активность антиоксидантного фермента СОД в данных условиях не могла сдерживать этих процессов, что подтверждает низкую устойчивость данного растения к условиям гипоксии.

#### Литература

Ершова А.Н. Метаболическая адаптация растений к гипоксии и повышенному содержанию диоксида углерода. Воронеж: Изд-во ВГУ, 2007. – 264 с.

Ершова А.Н., Попова Н.В., Бердникова О.С. Продукция активных форм кислорода и антиоксидантные ферменты растений гороха и сои при действии гипоксии и  $\text{CO}_2$  – среды // Физиология растений. – 2011. – Т. 58. – № 6. – С. 834-843.

Ершова А.Н., Бердникова О.С., Семендяева Е.С. Активность СОД и интенсивность свободнорадикального окисления в растениях в условиях дефицита кислорода // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов: межрегион. сб. науч. работ. – Воронеж, 2012. – Вып. 14. – С. 68-71.

Ильинская Л.И., Переходов Е.А., Чаленко Г.И., Герасимова Н.Г., Романенко Е.Н., Зиновьева С.В., Озерцовская О.Л. Активность липоксигеназы в растениях с индуцированной устойчивостью // Физиология растений. 2000. Т. 47. С. 516-523.

Прадедова Е.В., Ишеева О.Д., Саляев Р.К. Супероксиддисмутаза вакуолей клеток растений // Биологические мембраны. – 2009. – Т. 26. – № 1. – С. 21-30.

Шугаев А.Г., Лаштабега Д.А., Выскребенцева Э.И. Активность антиоксидантных ферментов в митохондриях растущих и покоящихся корнеплодов сахарной свеклы // Физиология растений. 2011. Т. 58. №3. – С. 323-329.

Braidot E. et al. Biochemical and immunochemical evidences for the presence of lipoxygenase in plant mitochondria // Journal of Experimental Botany. – 2004. – V. 55. – N 403. – P. 1655–1662.

Pavelic, D, Arpagaus S., Rawyler A., Brandle R. Impact of post-anoxia stress on membrane lipids of anoxia-pretreated potato cells. A re-appraisal // Plant Physiology. – 2000. – V. 124. – P.1285-1292.

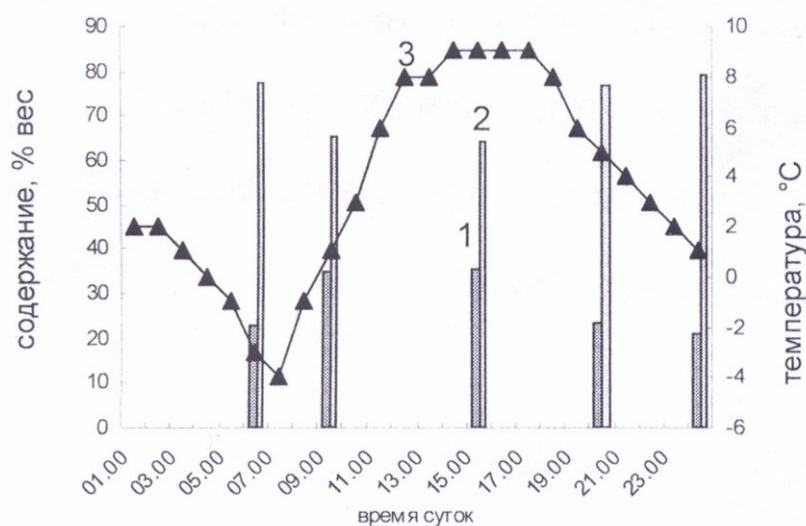
### **БИОХИМИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ПРЕДБАЙКАЛЯ В СВЯЗИ С СУТОЧНЫМИ ПЕРЕПАДАМИ ТЕМПЕРАТУР**

М.А. Живетьев, Л.В. Дударева, И.А. Граскова, В.К. Войников

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, nik.19@mail.ru

Исследование современного состояния экосистемы озера Байкал и механизмов ее функционирования методами физико-химической и молекулярной биологии является весьма актуальным. Работа направлена на решение фундаментальной проблемы устойчивости растений к абиотическим стрессам в климатических условиях озера Байкал. Решение этой проблемы связано с пониманием основных молекулярных и физико-химических механизмов, реализуемых в растительных клетках при стресс-адаптации к абиотическим факторам, присущим климату озера Байкал. Озеро Байкал находится в зоне резко-континентального климата, где значительные сезонные и суточные перепады температур заметно влияют на состояние и механизмы функционирования его экосистемы. Действие абиотического стресса, такого как низкие температуры, может привести к активации защитных и приспособительных реакций, в результате которых растение акклиматизируется к новым условиям. В этих условиях может увеличиваться ак-

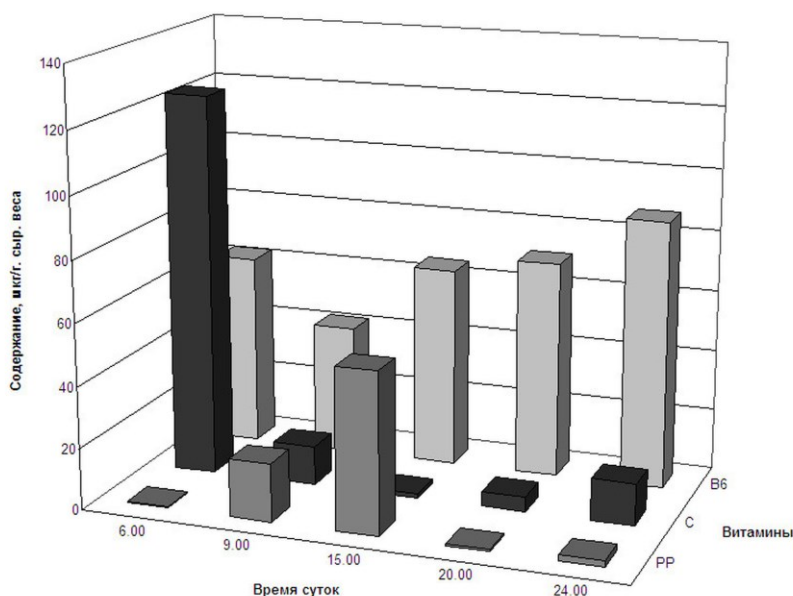
тивность ряда ферментов и синтез некоторых биологически активных веществ. По ночам растения подвергаются сильному гипотермическому воздействию, которое целесообразно исследовать для более полного понимания их адаптационных возможностей в естественных условиях обитания. Поэтому целью исследования было изучить биохимические изменения в листьях манжетки городковатой (*Alchemilla subcrenata* Buser) в связи с суточными изменениями температур в условиях осени Предбайкалья. Пробы листьев растений отбирались 14 – 15 октября 2010 года на территории стационара «р. Выдриная» начиная с 6 часов утра с периодичностью в 3 – 6 часов. За сутки температура изменялась от -4 до +9 °С. Изучено наличие изоформ пероксидазы в растворимой и слабосвязанной с клеточной стенкой фракциях. В листьях манжетки наблюдали как слабосвязанную с клеточной стенкой, так и растворимую пероксидазу, с относительной электрофоретической подвижностью  $R_f$  0,75. В течение всех суток растворимой пероксидазы было значительно больше по сравнению со слабосвязанной. Минимальное содержание слабосвязанной пероксидазы ( $R_f$  0,75) приходилось на 20 часов, а растворимой на 15. Таким образом, осенью в течение суток увеличение содержания изоформы с  $R_f$  0,75 в растворимой фракции пероксидазы листьев манжетки предшествовало увеличению содержанию изоформы 0,75 в слабосвязанной с клеточной стенкой фракции. Был проведен анализ накопления стрессовых белков в листьях манжетки в течение суток в октябре. Показано наличие во всех пробах Hsp70, Hsp60 и отсутствие Hsp101. Cor14b присутствует только в 6 часов утра, что может свидетельствовать о том, что его белковые молекулы экспрессируются в холодное время суток и потом элиминируются при повышении окружающей растению температуры. Hsp17,6 выявлен в пробах манжетки, собранных в 9<sup>00</sup> и 15<sup>00</sup>. Исследована суточная динамика содержания растворимых сахаров в листьях манжетки в середине октября. В суточной динамике растворимых углеводов, выполняющих крио-протекторную функцию, отмечается увеличение их содержания в вечерние часы и к полуночи. В это время они могут защищать растение от низкотемпературного воздействия. В шесть утра температура воздуха еще продолжает падать, но углеводы к этому времени активно ассимилируются. Очевидно, к утру, а так же во второй половине ночи, низкомолекулярных сахаров становится мало в цитоплазме, и они перестают выполнять защитную роль. Повидимому, к этому времени



**Рис. 1.** Содержание насыщенных (1) и ненасыщенных (2) жирных кислот манжетки (% вес от общего содержания жирных кислот) в зависимости от температуры (3) 14 октября 2010 г., стационар «Речка Выдриная».

растение успевает адаптироваться к ночной гипотермии с помощью других молекул: ненасыщенных жирных кислот, синтезируемых десатуразами и, еще более поздним, синтезом белков холодового шока. Адаптация к ночной гипотермии у растений происходит в том числе за счет увеличения ненасыщенности жирных кислот. Было исследовано изменение состава жирных кислот в течение суток на р. Выдринная. На рисунке 1 видно, что в целом в теплое время суток происходит увеличение содержания насыщенных ЖК. Особенно сильно это выражено в 9 часов утра и 15 дня. Соответственно, общее содержание ненасыщенных жирных кислот (ННЖК), наоборот, максимально вечером, ночью и ранним утром, а понижается в 9 утра и минимально днем.

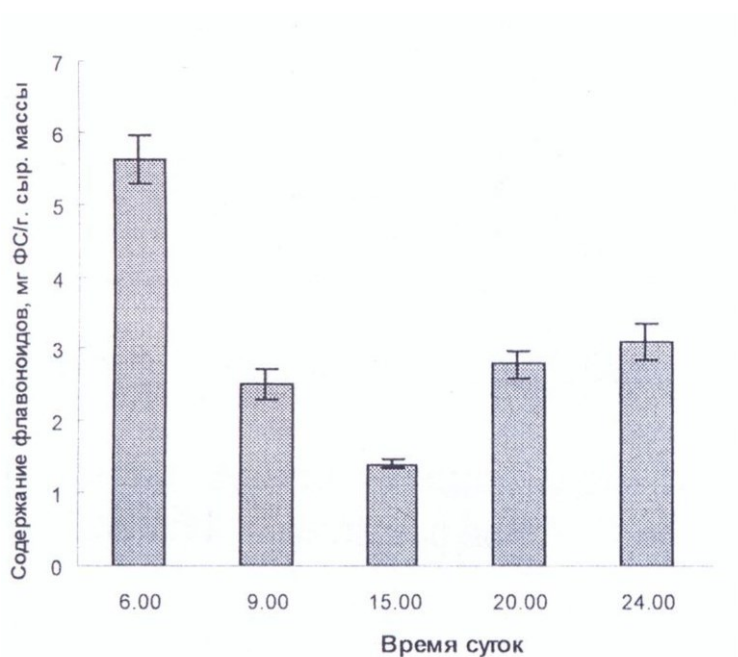
Изучено изменение активности  $\omega$ 9-,  $\omega$ 6- и  $\omega$ 3-десатураз в листьях манжетки. Активность  $\omega$ 9-десатуразы была максимальной в 24<sup>00</sup> (0,47). Этому соответствует интенсивное образование олеиновой кислоты C18:1(n-9). Активность этого фермента остается высокой на протяжении холодного времени суток до 6 часов утра (0,43) и уменьшается только с 9 утра, когда воздух начинает прогреваться.  $\omega$ 6-десатуразная активность, обладает по нашим наблюдениям максимальной стабильностью. Активность  $\omega$ 3-десатуразы минимальна в девять утра (0,80), к 15 часам возрастает (0,86), немного падает к восьми вечера (0,85) и вновь возрастает в полночь и в шесть утра, достигая суточных максимумов (0,87). Особенности изменения активности десатураз при адаптации манжетки к колебаниям температуры в течение суток на побережье Байкала заключаются в увеличении активности  $\omega$ 9- и  $\omega$ 3-десатураз в холодное время суток, а активность  $\omega$ 6-десатуразы остается стабильной в течение суток. Исследовано изменение содержания витаминов В<sub>6</sub>, С и РР в листьях манжетки в течение суток (рис. 2). Выявлено повышение содержания витамина С вечером и в полночь. Пик содержания этого витамина приходился на 6 часов утра. Содержание витамина РР, наоборот, было высоким в дневные часы, а вечером и ранним утром минимально. Для витамина В<sub>6</sub> такой четкой зависимости от суточного хода температур не прослеживается. Тем не менее, максимум содержания этого витамина приходится на 24<sup>00</sup>, а минимум на 9<sup>00</sup>. Таким образом, показано, что во время ночной гипотермии в октябре у манжетки происходит увеличение содержания витамина С при относительно низком содержании витамина РР. Также в полночь выявлен максимум витамина В<sub>6</sub>.



**Рис. 2. Содержание витаминов В<sub>6</sub>, С и РР в листьях манжетки в разное время суток в середине октября.**

Содержание флавоноидов, выраженное в мг фенольных соединений на грамм сырой массы листа, представлено на рис. 3. Максимальное содержание флавоноидов наблюдается в ранние утренние часы, сильно уменьшается днем и снова возрастает вечером. Максимумы активности пероксидазы и содержания флавоноидов строго не совпадают и смещены по времени друг относительно друга.

Динамика содержания флавоноидов более близка к динамике содержания слабосвязанной фракции пероксидазы, чем ее растворимых форм. Так, в шесть утра наблюдали очень высокие содержания флавоноидов при относительно низкой активности обеих пероксидаз. К девяти часам утра резко снижается содержание флавоноидов при увеличении активности пероксидазы. В послеполуденные часы содержание флавоноидов продолжает снижаться, хотя активность растворимых пероксидаз увеличивается



**Рис. 3. Изменение содержания флавоноидов в листьях манжетки в течение суток 14 октября 2010, стационар «р. Выдриная».**

слабо, а растворимых – заметно снижается. К восьми часам вечера активность всех пероксидаз достигает минимума, и наблюдали заметный рост содержания флавоноидов. К полуночи флавоноидов становится чуть больше, хотя статистически различия не достоверны. Возможно, рост содержания фенолов сдерживается активностью пероксидаз, возрастающей к полуночи. За ночь активность пероксидазы снова падает, а фенолы к утру накапливаются. Таким образом, на примере манжетки показана адаптация растительного метаболизма и суточные изменения при смене дневных положительных температур на ночные отрицательные. При этом в течение суток происходит не только адаптивное изменение обмена углеводов, изменение насыщенности жирных кислот и активности ферментов, но и изменяется степень накопления тех или иных стрессовых белков и биологически активных веществ. Всестороннее изучение проблемы адаптации растений к климату Прибайкалья показало, что серьезные преобразования метаболизма растений происходит не только в течение сезона вегетации, но и не менее существенные перестройки обмена веществ в течение одних суток. Полученные результаты могут быть использованы для выработки стратегии природоохранных мероприятий, направленных на сохранение экосистемы озера Байкал и имеют важное значение в осознании уникальности ее фитоценозов.

# АНТИРАДИКАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА РЕГУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ «МЕЛАФЕНА» ОПРЕДЕЛЯЮТ УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА К НЕДОСТАТОЧНОМУ УВЛАЖНЕНИЮ

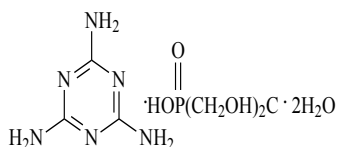
И.В. Жигачева<sup>1</sup>, И.Ф. Русина<sup>2</sup>, И.П. Генерозова<sup>3</sup>, А.Г. Шугаев<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук,  
Москва, zhigacheva@mail.ru

<sup>2</sup>Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, Москва, icp@chph.ras.ru

<sup>3</sup>Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук,  
Москва, ag-shugaev@ippras.ru

Митохондрии являются «энергетическими станциями», обеспечивающими клетки энергией. Около 1-3% потребляемого митохондриями кислорода в результате 1 - электронного восстановления образует активные формы кислорода (АФК). Однако, в норме стационарный уровень АФК в органах и тканях весьма низок (порядка  $10^{-10}$  -  $10^{-11}$  М) за счет наличия в них ферментативной и не ферментативной систем регуляции накопления и устранения АФК [Taylor N.L et al, 2005]. Смещение антиоксидантно - прооксидантного соотношения в сторону увеличения продукции АФК происходит под действием стрессовых факторов и может привести к гибели организма. В связи с этим довольно актуальна проблема поиска новых препаратов, обладающих адаптогенными свойствами. Мы предположили, что основным свойством адаптогенов является снижение уровня АФК в клетках. При стрессовых воздействиях основным источником АФК являются митохондрии [Plotnikov E. et al, 2008]. В связи с этим было выдвинуто предположение, что основным свойством препаратов - адаптогенов является снижение чрезмерной продукции АФК, а, следовательно, и снижение интенсивности процессов перекисного окисления липидов в биологических мембранах и главным образом в мембранах митохондрий. Это предположение было проверено нами на препаратах, оказывающих влияние на рост и развитие растений, т.е. на регуляторах роста растений. В эксперименте использовали синтезированный в Институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова РАН, Казанского Научного центра препарат «Мелафен» (меламиновая соль бис (оксиметил)-фосфиновой кислоты):



Мелафен

В качестве стрессового воздействия использовали модель недостаточного увлажнения и в качестве объекта исследования - митохондрии 5-дневных этиолированных проростков гороха.

**Семена гороха** промывали водой с мылом и 0,01% раствором  $\text{KMnO}_4$ . Контрольную группу семян замачивали в воде, а опытную группу – в  $2 \times 10^{-12}$  М растворе мелафена. Длительность замачивания – 1 час. Затем семена переносили в закрытые кюветы на влажную фильтровальную бумагу, где они находились в течение 1 суток. Спустя 1 сутки половину семян контрольной группы и половину семян, обработанных мелафеном, на двое суток переносили в открытые кюветы на сухую фильтровальную бумагу. Вторая половина семян контрольной группы оставалась в закрытых кюветках на влажной

фильтровальной бумаге, где они находились в течение 5 суток. Спустя двое суток «засуши» семена переносили в закрытые кюветы на влажную фильтровальную бумагу, где они находились в течение последующих 2 суток. На пятые сутки выделяли митохондрии из эпикотилей проростков гороха.

**Выделение митохондрий** из этиолированных проростков гороха проводили методом дифференциального центрифугирования [Попов В.Н., Руге Э.К., Старков А.А., 2003].

**Антирадикальную активность (АРА)** препарата оценивали хемилюминисцентным методом (ХЛ) в среде АИБИН индуцированного окисления этилбензола (60°). Интенсивность ХЛ усиливали 9,10-дибромантраценом. Эффективную константу  $k_7$  рассчитывали из серии ХЛ кривых с разной концентрацией мелафена [Юдина Н.В., Писарева С.И., Саратиков А.С., 1998]. Полученные результаты соотносили с данными, полученными с использованием известных антиоксидантов  $\alpha$ -токоферола и хромана С1 (аналога  $\alpha$ -токоферола). **Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ)** оценивали флуоресцентным методом, используя спектрофлуориметр «FluoroMax-HoribaYvon GmbH» (Германия) [Fletcher B.I., Dillard C.D., Tappel A.L., 1973].

Недостаточное увлажнение приводило к 3-х кратному увеличению содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах митохондрий проростков гороха. Изменения физико-химических свойств мембран митохондрий, возможно, приводили к изменению липид-белковых взаимодействий, а, следовательно, и активности связанных с мембранами ферментов. Действительно, 2-дневный водный дефицит вызывал изменения функционального состояния митохондрий, характеризующиеся снижением максимальных скоростей окисления NAD-зависимых субстратов: скорости окисления малата + глутамата в присутствии АДФ или разобщителя (FCCP) были на 29-30% ниже контрольных значений. При этом снижалась и эффективность окислительного фосфорилирования: величина дыхательного контроля по Чансу снижалась с  $2,27 \pm 0,01$  до  $1,70 \pm 0,02$ .

Падение максимальных скоростей окисления NAD-зависимых субстратов в условиях недостаточного увлажнения, вероятно, было связано со снижением скоростей транспорта электронов на конечном цитохромоксидазном участке дыхательной цепи. При исследовании влияния недостаточного увлажнения на скорости окисления пары аскорбата + ГМФД (тетраметил- $\pi$ -фенилендиамина) выявлено 40% снижение скоростей транспорта электронов на этом участке дыхательной цепи. Замачивание семян в  $3 \times 10^{-9}$  М растворе мелафена предотвращало вызванные недостатком влаги изменения эффективности окислительного фосфорилирования. Такая обработка восстанавливала скорости окисления NAD-зависимых субстратов в присутствии АДФ или FCCP и скорости транспорта электронов на цитохромоксидазном участке дыхательной цепи до контрольных значений.

Кроме того, мелафен предупреждал активацию ПОЛ. При этом интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий почти не отличалась от контрольных значений. Снижение интенсивности ПОЛ, а следовательно, и восстановление биоэнергетических характеристик митохондрий проростков гороха, вероятно, связано с антирадикальными свойствами препарата поскольку эффективная константа скорости ( $k_7$ ) взаимодействия мелафена с пероксильными радикалами довольно высока и составляет  $1,64 \times 10^6 (\text{Mc})^{-1}$ .

Антирадикальные свойства препарата отражались на физиологических показателях: обработка семян гороха мелафеном приводила к 5-кратной стимуляции роста корней и к 4-кратной стимуляции роста побегов в условиях недостаточного увлажнения. Отметим, что обнаруженная стимуляция роста корней проростков в условиях засухи имеет большое адаптивное значение.

### Литература

Попов В.Н., Руге Э.К., Старков А.А. Влияние ингибиторов электронного транспорта на образование активных форм кислорода при окислении сукцината митохондриями гороха // Биохимия. 2003-Т. 68- С. 910–916.

Юдина Н.В., Писарева С.И., Саратиков А.С. Противоязвенная активность фенольных соединений торфа // Химия растительного сырья. 1998.-№4.-С. 29-32.

Fletcher B.I., Dillard C.D., Tappel A.L. Measurement of Fluorescent Lipid Peroxidation Products in Biological Systems and Tissues // Ann. Biochem. 1973- V. 52- P. 1–9

Plotnikov E., Chupyrkina A., Vasileva A., Kazachenko A., Zorov D/ The role of reactive oxygen and nitrogen species in the pathogenesis of acute renal failure//BBA 2008-V. 1777-S58-S59

Taylor N.L., Heazlewood J.L., Day D.A., Millar A.H. Differential impact of environmental stresses on the pea mitochondrial proteome// Mol Cell Proteomics, 2005- V. 4 - P. 1122–1133

## ИНДУКЦИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ЗЛАКОВ К ПРИРОДНЫМ ФЛУКТУАЦИЯМ ТЕМПЕРАТУРЫ

В.В. Жук, М.М. Мусиенко

КНУ им. Т.Г. Шевченка, Украина, Киев, zhuk\_bas@voliacable.com

Температуры среды относятся к главным факторам, определяющим распространение растений и возможность их возделывания. Территория Украины находится в зоне значительных колебаний температур в период выращивания злаков. Наибольшее значение в реализации продуктивного потенциала основных зерновых культур имеют температуры среды, которые наблюдаются в фазах заложения и развития репродуктивных органов, поэтому проблема индукции устойчивости у злаков к излишнему теплу остается актуальной

Известно, что фотосинтез относится к наиболее чувствительным к высокотемпературному стрессу процессам. Излишняя тепловая энергия дестабилизирует работу фотосистем, особенно реакционных центров фотосистемы II, приводит к деструкции белков, пигментов, ускорению старения листьев. Закрывание устьиц создает дефицит эндогенного CO<sub>2</sub>, что подавляет функционирование цикла Кальвина у растений, создает дефицит энергии ассимилятов. Эффективность фотосинтеза у C<sub>3</sub>-растений, к которым относятся пшеница и овес, снижается в условиях высокой температуры среды из-за усиления оксигеназной реакции Рубиско, повышения интенсивности фотодыхания.

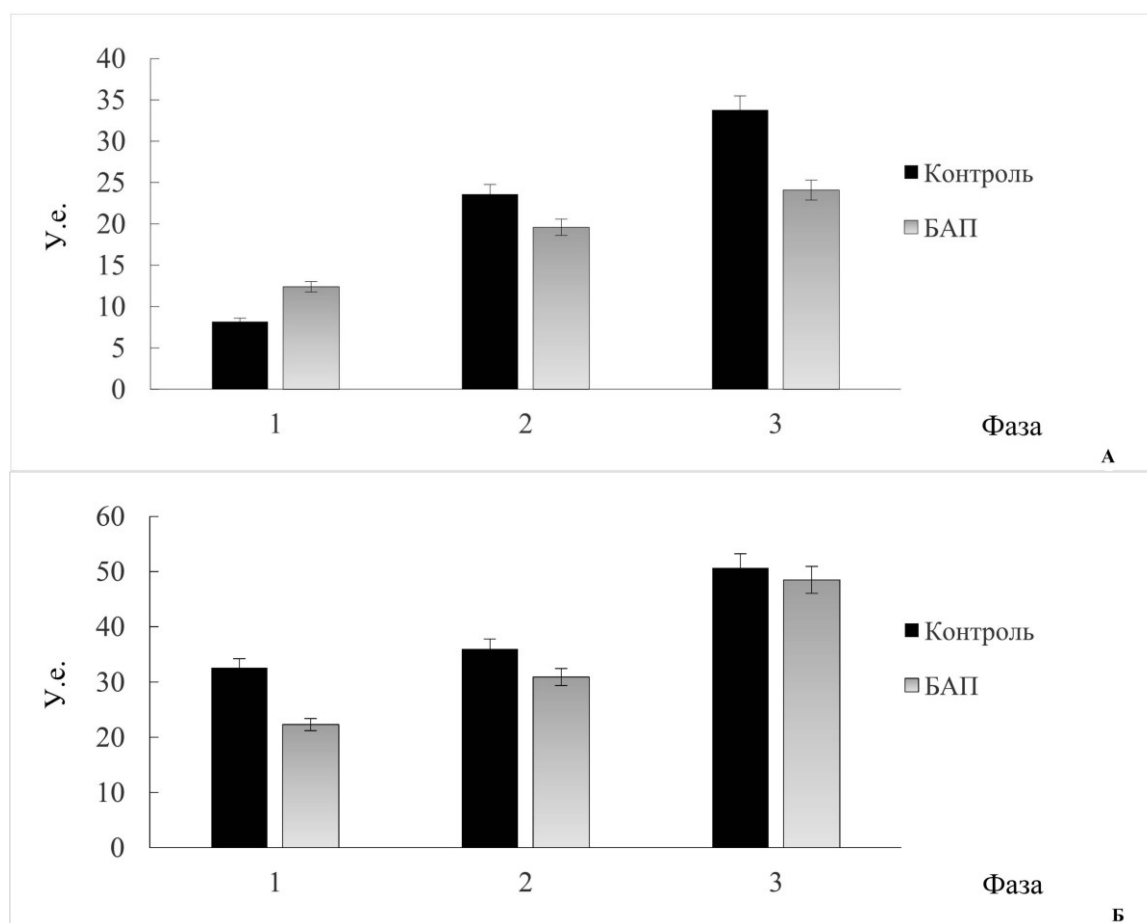
Высокая температура в сочетании с засухой создает дефицит эндогенных цитокининов, что стимулирует процессы запрограммированного старения листьев, дестабилизирует пигментный комплекс, приводит к усилению продуцирования активных форм кислорода (АФК) [Бараненко, 2006]. Показано, что использование экзогенных цитокининов может индуцировать устойчивость злаков, снижать уровень АФК за счет активации системы антиоксидантных ферментов [Lavaleta-Mancera et al, 2007]. Однако, эти результаты получены преимущественно в условиях модельных лабораторных опытов. Индукция устойчивости злаков к оксидному стрессу, вызванному высокими температурами окружающей среды, в полевых условиях у яровых злаков пшеницы и овса исследована недостаточно.

Целью нашей работы было изучение индукции устойчивости злаков яровой пшеницы и овса к флуктуациям температуры экзогенным цитокинином 6-БАП на основании анализа ферментов, участвующих в утилизации активных кислорода.



Объектами исследований были растения мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Скороспелка 99, и овса (*Avena sativa* L) сорта Саломон, которые выращивали в условиях полевого опыта в Киевской области. Почва серая лесная легкосуглинистая. Определение активности антиоксидантных ферментов проводили после гомогенизации листьев в 50 мМ калий-фосфатном буфере (pH 7,0) на холоде с добавлением 0,1 мМ ЕДТА. Гомогенат центрифугировали 20 мин. при 12000 g. Супернатант отбирали для определения активности ферментов [Rios-Gonzalez, Erdei, Lips, 2002]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) (ЕС 1.15.1.1) измеряли фотохимическим методом [Beyer, Fridovich, 1987]. Одну единицу СОД определяли как количество фермента, необходимого для 50% ингибирования восстановления нитросинего тетразолия при 560 нм в присутствии рибофлавина на свету. Активность каталазы (ЕС 1.11.1.6) определяли в реакционной смеси, которая содержала калий-фосфатный буфер (pH 7,0), 0,03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и ферментный экстракт [Uradhyaya, Sankhla, Davis, 1985]. Измерение падения оптической плотности H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> проводили на 240 нм.

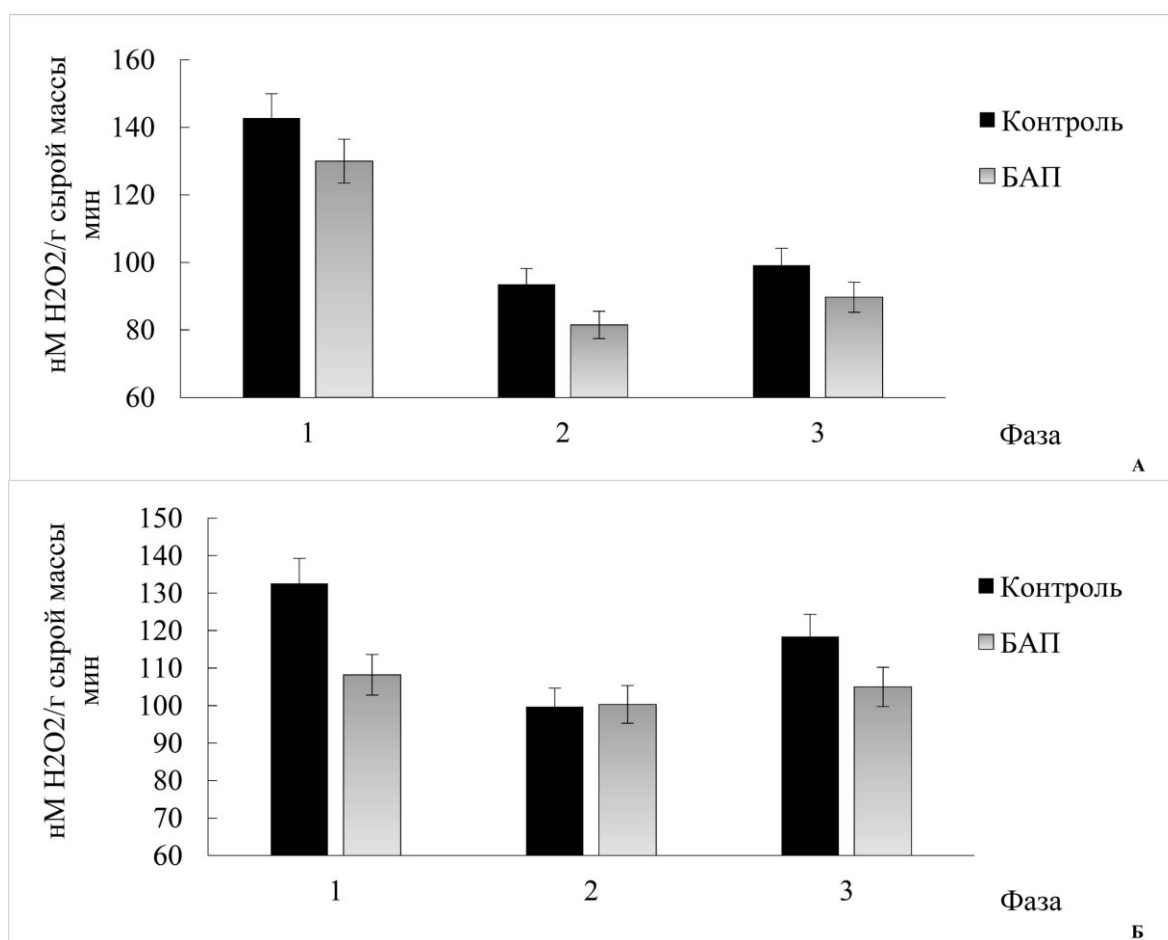
Показано, что в растениях пшеницы активность цитозольной СОД после обработки растений пшеницы БАП в фазе выхода в трубку незначительно возрастала, однако в фазах цветения и налива зерна была ниже, чем у растений контрольного варианта (рис. 1.А). У растений овса снижение активности СОД в верхних листьях наблюдали сразу после обработки БАП, однако в последующие периоды активность СОД повышалась и достигала значений, которые совпадали с контролем (рис.1. Б). У растений яровой



**Рис.1. Влияние БАП на активность цитозольной СОД во флаговых листьях пшеницы сорта Скороспелка 99 и овса Саломон (фаза развития 1--цветение, 2-налив зерна, 3-молочная спелость).**

пшеницы индукция устойчивости БАПом проявлялась усилением активности СОД, которая затем снижалась и соответствовала стабилизации фотосинтетического аппарата, задержке процессов старения. У устойчивого к высокой температуре овса БАП индуцировал снижение активности СОД, что указывает на уменьшение продуцирования синглетного кислорода.

Активность каталазы под действием БАП у растений пшеницы незначительно снижалась и оставалась на более низком, по сравнению с контролем уровне до фазы молочной спелости зерна (рис. 2 А). В контроле уменьшение активности каталазы снижалась до фазы налива зерна и оставалась на одном уровне в фазе молочной спелости зерна. Снижение активности каталазы в листьях пшеницы под влиянием экзогенного цитокинина свидетельствует о задержке процессов старения, уменьшении уровня эндогенной перекиси водорода.



**Рис.2. Влияние БАП на активность каталазы во флаговых листьях пшеницы сорта Скороспелка 99 и овса сорта Саломон (фаза развития 1- цветение, 2-налив зерна, 3-молочная спелость).**

В листьях овса обработка растений БАП приводила к значительному снижению активности каталазы уже в фазе выхода в трубку и оставалась на одном уровне до фазы молочной спелости. Таким образом, обработка растений пшеницы и овса в фазе выхода в трубку цитокинином БАП индуцировала устойчивость злаков пшеницы и овса к повышению температуры окружающей среды, о чем свидетельствовало снижение активности антиоксидантных ферментов. Нашими предыдущими исследованиями выявлено, что обработка растений озимой пшеницы в фазе выхода в трубку снижала активность ключевого фермента утилизации активных форм кислорода СОД [Жук, Мусиенко,

2012], а природная засуха усиливала продуцирование эндогенного пероксида водорода. Очевидно, индукция устойчивости у растений пшеницы и овса к флуктуациям температуры среды экзогенным цитокинином предполагает снижение уровня оксидного стресса, которое идентифицировали по изменению активности ферментов, участвующих в утилизации активных форм кислорода.

#### Литература

Бараненко В.В. Супероксиддисмутаза в клетках растений// Цитология.- 2006.-48, №6.-С.465-474.

Жук В.В, Мусиенко Н.Н. Влияние почвенной засухи на уровень эндогенного пероксида водорода в листьях пшеницы и овса // Материалы международной научно-практической конференции «Ботанические чтения» (Ишим, 11-12 мая 2012) – Ишим: Изд-во ИГПИ им. П.П. Ершова, 2012 – С. 53-54.

Жук В.В., Мусиенко Н.Н. Влияние БАП на активность супероксиддисмутазы в листьях озимой пшеницы в условиях природной засухи // Материалы II Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии»: – Чебоксары: Чуваш.гос. пед. ун-т.- 2012. – С. 168 – 171.

Beyer W. F. Jr., Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions// Anal. Biochim.- 1987.- **161**.-P.559-566.

Lavaleta-Mancera H.A., Lopez-Delgado H., Loza-Tavera H., Mora-Herrera M., Trevilla-Garcia C., Vargas-Suarez M., Ougham H. Cytokinin promotes catalase and ascorbate peroxidase activities and preserves the chloroplast integrity // Journal of Plant Physiology. - 2007. –v.164, N 12. –P.1612-1625.

Rios-Gonzalez K., Erdei L., Lips S.H. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources //Plant Sci.- 2002.- **162**.-P.923-930.

Suzuki N., Mittler R. Reactive oxygen species and temperature stresses: delicate balance between signaling and destruction//Physiol. Plant. -2006.-**126**.-P.45-51.

Upadhyaya A., Sankhla D., Davis T.D.. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves// J. Plant Physiol.- 1985.-**121**.-P.453-461.

### **УЧАСТИЕ ЩАВЕЛЕВОЙ КИСЛОТЫ И ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА В ИНДУЦИРОВАНИИ СИСТЕМНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К ВОЗБУДИТЕЛЮ СЕПТОРИОЗА**

И.В. Жук, А.П. Дмитриев

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев, iren\_zhuk@mail.ru

Одной из важнейших проблем современного сельскохозяйственного производства является защита растений от патогенов и вредителей, которые ежегодно вызывают потери 25-30% урожая. Индуцирование фенотипической устойчивости растений с помощью биогенных элиситоров – один из наиболее перспективных путей защиты от биотического стресса и минимизации пестицидной нагрузки на окружающую среду. Возможность повысить эффективность защитных свойств элиситоров добавлением сигнальных молекул все чаще привлекает внимание исследователей [Дмитриев и др., 2005; Васюкова и др., 2008]. В формировании устойчивости растений к биотрофным патогенам важную роль, как известно, играет реакция сверхчувствительности, которую в растительных клетках индуцируют метаболиты грибов. К их числу относится щавелевая

кислота. В некоторых системах патоген-растение щавелевая кислота действует как природный антиоксидант, ингибирующий окислительный взрыв [Cessna et al., 2000; Kayashima, Katayama, 2001]. Оксид азота (NO) участвует в регуляции сигнальной сети формирования иммунного ответа растений, путем индукции MAP-киназного сигнального каскада и регуляции уровня цитозольного кальция [Van Breusegem et al, 2001; Дмитриев, 2004; Бараненко, 2006].

Представляло интерес проверить, способна ли комбинация элиситора (щавелевой кислоты) и сигнальной молекулы (NO) индуцировать системную устойчивость яровой пшеницы к возбудителю септориоза *Septoria tritici* в природных условиях.

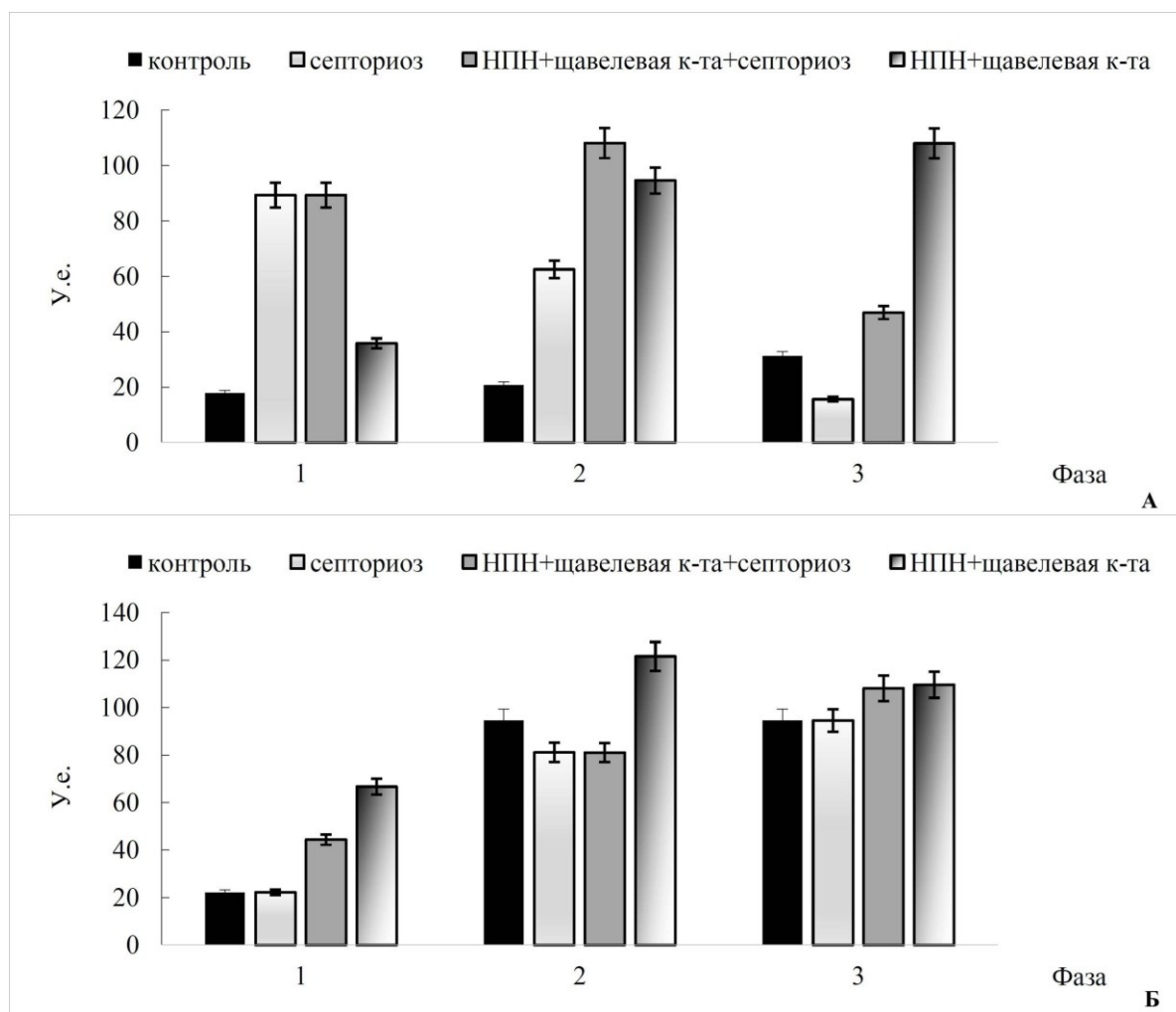
Объектом исследований были сорта яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. - Недра и Этюд, которые выращивали в условиях полевого опыта на серой лесной почве в Киевской области с использованием типичной агротехники. Обработку растений 0,1 мМ водным раствором щавелевой кислоты и 0,5 мМ раствором донора NO – нитропруссид натрия (НПН) и заражение возбудителем септориоза проводили в фазу выхода в трубку. В качестве маркера индуцированной устойчивости определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) [Beauchamp, Fridovich, 1971]. Отбор образцов проводили через сутки после заражения и затем во время колошения-цветения и созревания зерна. Оценку пораженности и степени развития болезни проводили в фазе молочно-восковой спелости зерна с использованием 9-бальной шкалы Саари и Прескотта [Методы селекции и оценки устойчивости пшеницы..., 1988]. В конце вегетации определяли морфометрические параметры – высоту растений, длину колоса и флагового листа. После созревания зерна проводили анализ структуры урожая. Повторность эксперимента трехкратная. Результаты обрабатывали статистически с использованием программного пакета Microsoft Excel.

Показано, что у слабоустойчивого к септориозу сорта яровой мягкой пшеницы Этюд активность СОД повышается у инфицированных растений в фазе выхода в трубку (рис.1А). В листьях инфицированных растений сорта Этюд, обработанных щавелевой кислотой и НПН, в фазу колошения-цветения после завершения инкубационного периода развития болезни, повышение активности СОД было наибольшим по сравнению с остальными вариантами. Тогда как в контроле оставалось на том же уровне, что и в фазе выхода в трубку. Полученные данные свидетельствуют об усилении окислительного взрыва в предварительно обработанных растениях в ответ на искусственное заражение. В фазе молочной спелости зерна высокая активность СОД сохранялась лишь у обработанных неинфицированных растений, что свидетельствует о сохранении высокой активности фотосинтетического аппарата, который является главным продуцентом супероксидного анион-радикала. В других вариантах опыта активность СОД снижалась.

У устойчивого к септориозу сорта яровой мягкой пшеницы Недра в фазе выхода в трубку активность СОД в инфицированных растениях была на уровне контроля. Обработка щавелевой кислотой и НПН незараженных растений в этой фазе индуцировала повышение активности фермента, что свидетельствует об усилении работы фотосистем (рис.1Б). В фазе колошения-цветения активность СОД повышалась во всех вариантах опыта по сравнению с предыдущей фазой, но особенно у обработанных комбинацией щавелевой кислоты и донора NO без заражения, что свидетельствует о высокой устойчивости к септориозу сорта Недра и стимуляции у него под действием этих соединений фотосинтеза.

Проведенная оценка заражения септориозом растений пшеницы по шкале Саари и Прескотта показала, что в варианте с комбинированной обработкой щавелевой кислотой и донором NO степень пораженности листьев у обоих сортов была меньше на 10-15%, что позволило сформировать более высокий урожай по сравнению с необработанным

ными растениями. При этом сорт Недра проявил более высокую устойчивость к возбудителю септориоза, чем сорт Этюд.



**Рис. 1. Влияние обработки щавелевой кислотой и донором NO – нитропруссидом натрия (НПН) на активность супероксиддисмутазы в листьях яровой пшеницы сорта Этюд (А) и Недра (Б) в ответ на инфицирование возбудителем септориоза (1- фаза выхода в трубку; 2 – колошение-цветение; 3 – молочной спелости зерна).**

Анализ структуры урожая показал, что пораженные возбудителем септориоза растения пшеницы отличаются снижением высоты, площади поверхности листьев и количества зерен в колосе. Кроме того, отмечено значительное поражение зерновок, что проявляется в виде некротических пятен на поверхности сформированного зрелого зерна. Зерновки имеют неправильную форму и недостаточно наполнены. Комбинированная обработка растений щавелевой кислотой и донором NO задерживала развитие болезни, что позволяло растениям развить большую площадь ассимиляционной поверхности листьев и увеличить высоту стебля по сравнению с инфицированными необработанными растениями. Что касается качества зерна, о котором судили по наполнению зерновок, количеству зерен в колосе и отсутствию у них некротических пятен, то комбинированная обработка щавелевой кислотой и НПН индуцирует высокий уровень защитного эффекта против возбудителя септориоза.

Таким образом, использованная нами комбинация элиситора и сигнальной молекулы оказалась активным индуктором системной устойчивости у растений слабоустойчивого сорта Этюд и стимулировала работу фотосинтетического аппарата у обоих сор-

тов пшеницы на завершающих этапах вегетации.

#### Литература

Бараненко В. В. Супероксиддисмутаза в клетках растений // Цитология, 2006. - № 6 - С. 465-474.

Васюкова Н.И., Чаленко Г.И., Герасимова Н.Г. и др. Активизация защитных свойств элиситоров с помощью системных сигнальных молекул при взаимодействии картофеля и возбудителя фитофтороза // Прикл. биохимия и микробиология, 2008. - №2. - С. 236-240.

Дмитриев А.П. Сигнальная роль оксида азота у растений // Цитология и генетика., 2004. - №4. – С.67–75.

Дмитриев А.П., Гродзинский Д.М., Полищук В.П. Индуцирование системной устойчивости у растений биогенными индукторами // Вестник Харьковского национ. аграрн. ун-та. Сер. Биология, 2005. - №3. - С. 24-36.

Методы селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах-членах СЭВ, 1988. - Прага.- 321 с.

Beauchamp C., Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // Anal. Biochem., 1971. - №44. - P. 276-287.

Cessna S. G., Sears V. E., Dickman M. B., Low Ph. S. Oxalic acid, a pathogenicity factor for *Sclerotinia sclerotiorum* suppresses the oxidative burst of the host plant // Plant Cell, 2000. - Vol. 12. - P. 2191–2199.

Kayashima T., Katayama T. Oxalic acid is available as a natural antioxidant in some systems // Biochim. Biophys. Acta, 2002. №1573. – P. 1-3.

Van Breusegem F., Vranova E., Dat J. F., Inze D. The role of active oxygen species in plant signal transduction // Plant Science, 2001. - Vol. 161. - P. 405-414.

### ПРОЦЕССЫ МАКРОМОРФОГЕНЕЗА ЗЛАКОВ В УСЛОВИЯХ АНОМАЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ СРЕДЫ

О.И. Жук

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев, zhuk\_bas@voliacable.com

Архитектура растений, старение и структура на разных уровнях организации имеет существенное значение в продукционном процессе у злаков [Шульгин и др., 1988]. В основе ее формирования лежат процессы макроморфогенеза. Получение максимального урожая в зонах с рискованным земледелием, к которым относится и территория Украины с частыми засухами, высокими температурами воздуха в весенне-летний период в значительной степени зависит от пластичности сорта, лабильной структуры стебля и листьев [Шульгин и др., 1988, Sarvari, Boros, 2010]. Способность современных сортов злаков адаптироваться к значительным колебаниям температуры, интенсивности падающей и поглощенной фотосинтетической радиации, обеспеченность CO<sub>2</sub>, минеральным питанием, водой позволяет сформировать высокий урожай. Выполнено значительное количество работ по изучению связи фотосинтеза, минерального питания с развитием семени и урожаем зерна пшеницы [Sharma-Natu et al., 2006, Carvajal et al., 1996, Ruggiero et al., 2007, Bancal, 2009]. Показано, что многие параметры фотосинтетического аппарата одинаковы у современных видов и сортов, однако архитектура растений и размеры ассимиляционного аппарата значительно варьируют. Однако, степень лабильности этих структур в условиях значительных температурных аномалий в период роста все еще мало исследована. Пшеница как монокарпическое растение реа-

гирует на ухудшение условий среды ускорением развития репродуктивных органов, что нередко изменяет направленность и темпы морфогенетических процессов в листовых пластинках и стебле [Davies, Gan, 2012].

Целью работы было изучение влияния высоких аномальных температур воздуха на процесс морфогенеза стебля пшеницы, формирования ассимиляционного аппарата листьев, обслуживающих в процессы формирования и налива зерна.

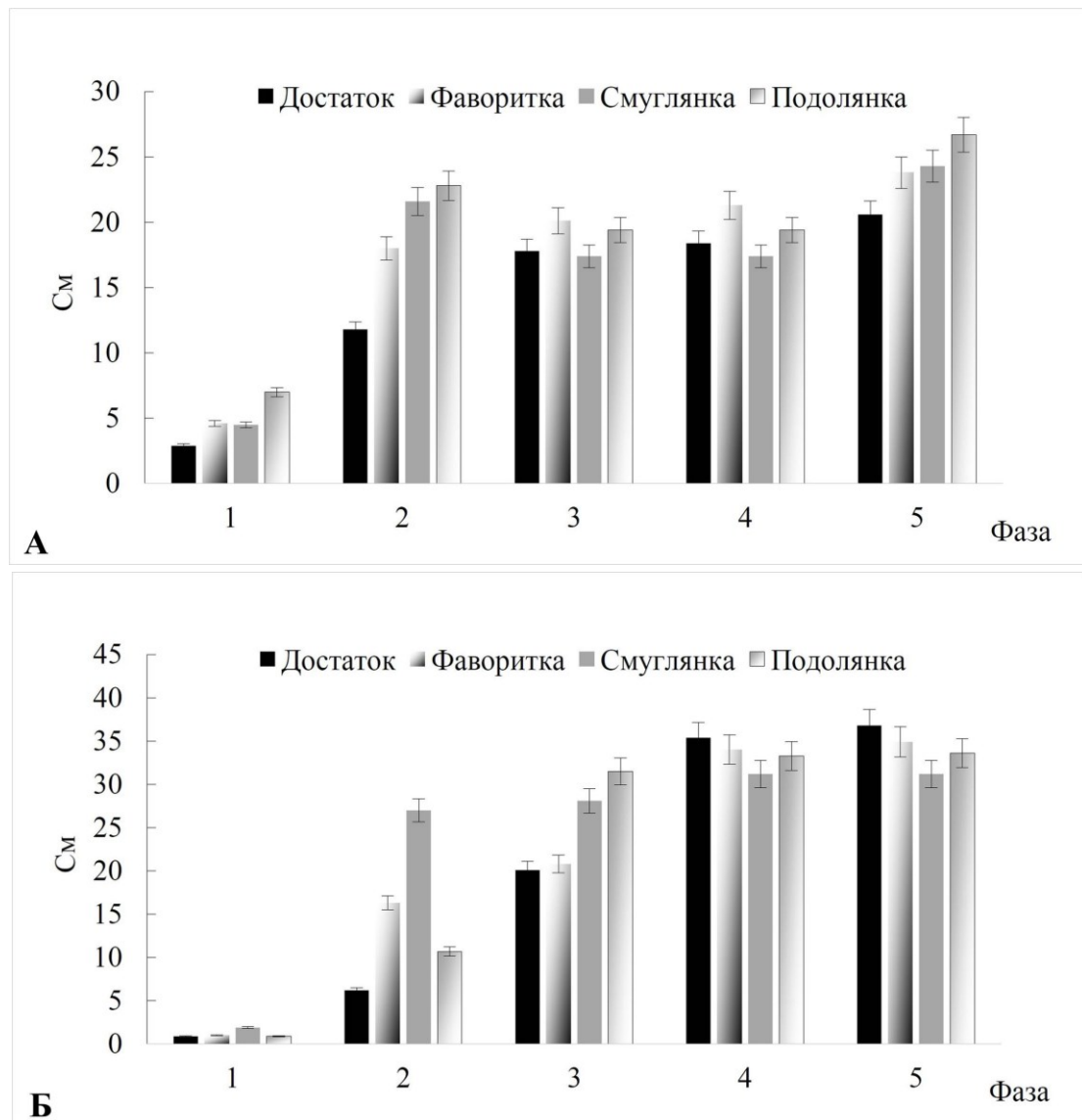
Растения озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сортов Достаток, Фаворитка, Смуглянка, Подолянка выращивали в условиях полевого опыта в Киевской области в 2012 году. Почва серая лесная легкосуглинистая, агротехника типичная для зоны. Со середины мая до июня отмечены аномально высокие температуры воздуха, которые в дневные часы достигали 30 °С. В этот период растения проходили фазы выхода в трубку, колошения, цветения и формирования зерна. Отбор растений пшеницы для определения темпов макроморфогенеза производили от начала выхода в трубку до фазы молочно-восковой спелости зерна. В каждом отборе проводили замеры не менее 30 растений. Результаты обработаны статистически с использованием программы Microsoft Excel.

Четвертое и пятое междоузлия пшеницы выполняют у пшеницы не только опорные функции, но и тесно связаны с ростом и развитием колоса, зерен, служат для запаса фотоассимилятов и снабжения ими колоса в период налива зерна, когда донорная функция флагового и подфлагового листьев ослабевает. Значительное повышение температуры воздуха в начальные периоды роста последних двух междоузлий стебля пшеницы ускорило темпы их растяжения, однако они существенно различались у отдельных сортов (рис.1 А, Б). Рост четвертого междоузлия в основном завершался у всех изученных сортов до фазы цветения, но у сорта Подолянка он продолжался в период формирования зерновки. Окончательное завершение роста четвертого междоузлия было только в фазе молочной спелости зерна. Рост пятого междоузлия у сорта Смуглянка завешается до фазы колошения, у сорта Подолянка – до цветения, а у сортов Достаток и Фаворитка – в фазе формирования зерновки (рис.1 Б). Темпы роста пятого междоузлия у сортов пшеницы в условиях высокой температуры воздуха отличались более значительно, чем четвертого, что может быть обусловлено не только спецификой сорта, но и различной чувствительностью факторам среды. Изучение площади листьев показало, что она значительно отличалась у флагового и подфлагового листьев (табл.1).

Наибольшая площадь флагового листа отмечена у пшеницы сорта Фаворитка, но наибольшая площадь подфлагового листа отмечена у сорта Достаток (табл.1). Прямой корреляции между площадью листьев и формированием массы зерна не наблюдали, что свидетельствует об участии в этом процессе пула ассимилятов стебля. Сорт Достаток сформировал наибольшее количество зерен в колосе, однако масса 1000 зерен у этого сорта была наименьшей. Сорта Смуглянка и Фаворитка формировали практически одинаковое количество зерен в колосе, однако площадь листьев у них на 30% отличалась. Наибольшую массу зерен сформировал сорт Подолянка, у которого было заложено наименьшее количество зерен в колосе.

У всех сортов пшеницы отмечено формирование длинного влагалища у флагового листа, которое полностью закрывало колос до завершения его формирования и в период цветения растений. В условиях высокой температуры и низкой влажности воздуха самоопыление у пшеницы и начальные периоды формирования зерновок происходят еще до появления колоса из влагалища флагового листа, что обеспечивает защиту начальных этапов их роста и развития в период активного функционирования меристематических тканей.

У пшеницы, как у монокарпического растения, в период индукции цветения одновременно индуцируется генетическая программа старения, которая корректируется



**Рис. Рост междоузлий озимой пшеницы сортов Достаток, Фаворитка, Смуглянка, Подольнка: А- четвертое междоузлие, Б- пятое междоузлие (фазы:1- выхода в трубку, 2- колошения, 3- цветения, 4- формирования зерновки, 5- молочно-восковой спелости зерна).**

**Таблица**

**Площадь листьев и продуктивность главного побега пшеницы**

Сорт	Площадь флагового листа, см <sup>2</sup>	Площадь подфлагового листа, см <sup>2</sup>	Количество зерен в колосе, шт.	Масса 1000 зерен, г
Достаток	45,1±1,1	38,5±1,0	41±2	33,3±0,5
Фаворитка	54,0±1,8	34,5±0,8	38±2	37,2±0,7
Смуглянка	38,4±0,8	32,3±1,2	39±2	34,7±0,6
Подольнка	40,7±1,2	32,0±1,1	33±2	38,8±0,8

условиями окружающей среды. Изменение темпов и направленности морфогенетических процессов после начала формирования репродуктивных органов пшеницы под влиянием аномально высокой температуры среды направлено на обеспечение продуктивного процесса сохранения пыльцы и осуществления процессов оплодотворения и начала развития семени в максимально благоприятных условиях температуры, влажно-



сти, обеспеченности ассимилятами. Полученные результаты свидетельствуют, что именно последнее междоузлие, несущее колос, подвергается максимальной коррекции в условиях резкого повышения температуры воздуха в период выхода в трубку. Изменения в росте флагового листа при достаточной обеспеченности растений элементами минерального питания позволяют сформировать укороченную, но широкую листовую пластинку, способную обеспечить формирующийся колос ассимилятами до фазы молочно-восковой спелости зерна. В условиях дефицита основных элементов минерального питания, воды донорные функции флагового листа снижаются, он подвергается ускоренному старению и формирование зерновки продолжается преимущественно за счет запасов углеводов в стебле [Sharma-Natu et al., 2006]. В последние годы резкие повышения температуры воздуха на севере Украины наблюдают уже в мае, что существенно снижает на реализацию продуктивного потенциала пшеницы и требуют повышения пластичности для вновь создаваемых сортов.

#### Литература

- Шульгин И.А., Щербина И.П., Айдосова С.С., Панкрухина Т.В. О функциональности структуры побегов пшеницы // Физиология растений. - 1988. - **35**, №4. - С.669-677.
- Bancal P. Early development and enlargement of wheat floret primordial suggest a role of partitioning within spike to grain set // Field Crop Research. - 2009. - **110**. - P.44-53.
- Carvajal M., Cooke D.T., Clarkson D.T. Responses of wheat plants to nutrition deprivation may involve the regulation of water channel function// Planta. - 1996. - **199**, N2. - P.372-384.
- Davies P.J., Gan S. Towards an integrated view of monocarpic plant senescence// Физиология растений. - 2012. - **59**, №4. - С.509-520.
- Ruggiero C., Angelino G., Maggio A. Developmental regulation of water uptake in wheat// J.Plant Physiol. - 2007. - **164**, N9. - P.1170-1178.
- Sarvari M., Boros B. The impact of climate on crop production// Агрэкологический журнал. - 2010. - №2. - С.53-58.
- Sharma-Natu P., Sumersh K.V., Lohot V.D., Ghildiyae M.C. High temperature effect on grain growth in wheat cultivars: an evaluation of responses// Indian J.Plant Physiol. - 2006. - **11**. - N3. - P.239-245.

### **ПОЛУЧЕНИЕ БИОБЕЗОПАСНЫХ БЕЗМАРКЕРНЫХ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАЛАНХОЭ ПЕРИСТОГО (*KALANCHOE PINNATA* L.) С ПОВЫШЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К БИОТИЧЕСКИМ СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ**

Н.С. Захарченко, Я.И. Бурьянов

Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, zachar@fibkh.serpukhov.su

Получение трансгенных растений связано с определенными рисками, обусловленных наличием селективных маркерных генов в растительном геноме и с возможностью их неконтролируемого переноса другим растениям и организмам. Обычно для отбора трансформированных растений используются селективные маркерные гены устойчивости к антибиотикам канамицину, гиромоцину или гербициду фосфинотрицину. В настоящее время имеются предпосылки создания трансгенных растений, лишенных этих недостатков и обладающих повышенной безопасностью по сравнению с существующим поколением трансгенных растений. Имеются различные способы изби-

рательной элиминации маркерных генов из хромосомного или хлоропластного генома после отбора трансгенных растений. К ним относится применение систем гомологичной и сайт-специфической рекомбинации Cre/lox, FLP/FRT или R/Rs, вырезающие маркерные гены у полученных растений [Endo et al., 2002]. Для получения безмаркерных растений предлагается также котрансформация их отдельными векторами для целевого и маркерного генов с последующим разделением этих генов в процессе полового скрещивания растений [Komari et al., 1996]. Существует метод отбора трансформантов на основе использования агробактериальных генов синтеза фитогормонов и их последующего удаления с помощью транспозаз мобильных генетических элементов, например транспозона кукурузы *Ac* [Puchta et al., 2002].

Трансгенные растения являются перспективными объектами для получения дешевых и безопасных рекомбинантных белков по сравнению с их традиционными продуцентами. В бактериальных системах экспрессии синтезируемые белки могут не приобретать нативной конформации и требуют сложной и дорогостоящей процедуры их очистки. Трансгенные растения представляют собой экономически выгодную альтернативу другим системам экспрессии и могут быть использованы в качестве "биофабрик" по производству целевых белков для медицинских и фармацевтических целей.

Целью нашей работы было получение безмаркерных трансгенных растений каланхоэ перистого, экспрессирующих ген антимикробного пептида цекропина P1 и устойчивых к фитопатогенам.

Каланхоэ - лекарственное растение, сок которого используют для лечения ожогов, язв, кожных ран и в качестве биостимулятора при пересадке кожи. В соке этого многолетнего травянистого растения содержатся флавоноиды, дубильные вещества, витамин С, микро- и макроэлементы: алюминий, магний, железо, кальций, кремний, марганец, медь. В листьях каланхоэ обнаружены полисахариды, органические кислоты: яблочная, щавелевая, уксусная, а также ферменты, из которых получают биологически активные препараты. Каланхоэ оказывает общее благотворное влияние на иммунитет человека. Повышение лечебных и бактерицидных свойств каланхоэ можно получить за счет экспрессии в растениях генов антибактериальных пептидов. В настоящее время антимикробные пептиды рассматривают как перспективную альтернативу классическим антибиотикам. Антимикробные пептиды различных классов найдены у всех эукариот, в том числе у растений и человека. Они являются интегрированной частью их иммунной системы, проявляют специфическую антибиотическую активность против различных патогенных бактерий и грибов и обладают апоптозной активностью.

Известно незначительное количество публикаций, посвященных генетической трансформации каланхоэ. Получены трансгенные растения каланхоэ (*Kalanchoe daigremontiana*), когда исследовалось соединение фруктозо-2,6-бифосфат (Fru2,6-P<sub>2</sub>), играющее важную роль в регуляции углеродного обмена при САМ фотосинтезе (кислотный метаболизм толстянковых). Трансгенные растения каланхоэ содержали ген 6-фосфофрукто-2-киназу (35S/6-PF-2-K), клонированный в бинарный вектор pBin19 в штамме агробактерий *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404 (pAL4404). Трансформация растений этим геном приводила к увеличению концентрации Fru2,6-P<sub>2</sub> в листьях и, как следствие, к повышению устойчивости растений к стрессовым условиям. Также получены трансгенные растения каланхоэ вида Блосфельдиана (*Kalanchoe blossfeldiana*) с уменьшенной чувствительностью к растительному гормону этилену, за счет экспрессии мутантного рецептора гена *etr1-1* из арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) под контролем цвето-специфичного промотора *fbp1* из петунии (*Petunia*). Трансгенные растения обладали замедленной скоростью старения. Известно о получении трансгенных растений каланхоэ вида Дегремона (*Kalanchoe daigremontiana*). Используя механизмы процессов органогенеза и эмбриогенеза исследовали регуляцию вегетативного размножения в ли-

стях каланхоэ. Супрессия мутантного гена *stm* (shoot meristemless) из арабидопсиса, перенесенного в растения каланхоэ, исключала возможность образования молодых побегов («деток») по краю листа каланхоэ.

Что касается каланхоэ перистого (*Kalanchoe pinnata*), широко применяемого в фармакологии, то в литературе отсутствуют данные о получении трансформированных растений этого вида.

В нашей работе для генетической трансформации каланхоэ перистого мы использовали ген антимикробного пептида цекропина P1. Цекропин P1 нематод относится к группе линейных  $\alpha$ -спиральных пептидов, не содержащих цистеина. Изучение его структуры показало, что в отличие от цекропинов насекомых он состоит из одной длинной положительно заряженной  $\alpha$ -спирали, в образовании которой задействованы практически все аминокислотные остатки. В связи с особенностями действия на мембраны цекропин P1 обладает уникальными свойствами. Он высоко активен против грамотрицательных бактерий (*Pseudomonas aeruginosa* IFO3899, *Salmonella typhimurium* IFO 13245, *Serratia marcescens* IFO3736, *Escherichia coli* JM 109, *Acinetobacter calcoaceticus* Ac 11), против грамположительных бактерий (*Staphylococcus aureus* IFO12732, *Bacillus subtilis* IFO3134, *Bacillus megaterium* Bm 11, *Micrococcus luteus* IFO12708), а также против дрожжей (*Sacharomyces cerevisiae* MAFF113011, *Candida albicans* IFO1060), опухолевых клеток] и грибных фитопатогенов.

Таким образом, представляется актуальным биосинтез в каланхоэ, цекропина P1 для его фармацевтического и медицинского использования. Трансгенные растения свободны от вирусов патогенных для человека и, следовательно, не требуется очистка получаемого в них продукта от вирусов.

Для агробактериальной трансформации использовали безмаркерный вектор pVM::*cecP1*. Трансформацию растений проводили методом вакуумной агроинфильтрации семян. Этот метод снимает зависимость от морфогенетического потенциала растений, устраняет возможность появления соматональных вариантов и значительно ускоряет процедуру трансформации. Для этого стерильные семена помещали в суспензию агробактерий CBE21(pVM::*cecP1*). В камере, с сосудом с семенами создавали вакуум -0.8 атм на 5 мин. При этом агробактерии легко проникали в ткани семян. После процесса агроинфильтрации семена проращивали в чашках Петри, а затем переносили в стеклянные пробирки со средой МС, содержащей 100 мг/л цефатоксима. Растения культивировали в люминостатной комнате и использовали для анализа. Экспрессию гена *cecP1* в канамицин-устойчивых растениях определяли вестерн-блот анализом. Анализ бесклеточных экстрактов части проростков агроинфицированных семян дал иммунопозитивный результат. Иммунодетекция продемонстрировала наличие полосы с молекулярной массой около 3,4 kDa, что соответствует полноразмерной зрелой форме пептида цекропина P1. При анализе 25-ти растений каждой из полученной линии от 6 до 10 растений были трансгенными, что соответствует 35%-ной эффективности трансформации. Всего было получено 7 линий трансгенных растений каланхоэ.

Наличие гена цекропина P1 в трансгенных растениях каланхоэ поколения F<sub>0</sub> было подтверждено методом ПЦР. Размер образующихся в результате амплификации фрагментов ДНК (102 п.н.) соответствовал полному размеру гена цекропина P1.

Антибактериальную активность тестируемых экстрактов рапса оценивали методом радиальной диффузии в агаровых блоках. Экстракты трансформированных растений проявляли заметные зоны лизиса по отношению к фитопатогену *E. carotovora*. Экстракты контрольных растений заметной антибактериальной активностью не обладали. Диаметр чистой зоны вокруг лунок с экстрактами трансгенных растений составлял около 5 мм, при добавлении цекропина P1 к экстрактам из контрольных растений в количестве 34 мкг, размер чистой зоны вокруг лунок был примерно такой, как и при

добавлении экстрактов из трансгенных растений с геном *secP1*, содержащих 2 мг общего белка. Определенное таким образом содержание цекропина P1 в трансгенных растениях составляет около 0.002% от общего растворимого белка листьев растений.

Трансгенные растения каланхоэ с геном антибактериального пептида цекропина P1 проявляют повышенную устойчивость к бактериальным и грибным фитопатогенным микроорганизмам: *Erwinia carotovora* и *Fusarium sporotrichioides*. Проводится дальнейшее исследование полученных биобезопасных трансгенных растений каланхоэ к абиотическим стрессовым факторам, поскольку есть данные о включении антимикробных пептидов в интегральную антистрессовую систему защиты растений.

Работа поддержана грантами РФФИ № 12-08-00131, 13-04-00636 и Программой фундаментальных исследований Президиума РАН № 30 «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

#### Литература

Endo S, Sugita K, Sakai M, et. al. Single-step transformation for generating marker-free transgenic rice using the ipt-type MAT vector system // Plant J. 2002. V. 30. P. 115-122.

Komari T., Hiei Y., Saito Y., et al. Vectors carrying two separate T-DNAs for co-transformation of higher plants mediated by *Agrobacterium tumefaciens* and segregation of transformants free from selection markers // Plant J. 1996. V. 10. P. 165-174.

Puchta H. Gene replacement by homologous recombination in plants // Plant Mol. Biol. 2002. V.48. P. 173-182.

## **БИОАККУМУЛЯЦИЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ВЫСШИХ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ СРЕДЫ РТУТЬЮ**

И.Г. Захожий, И.В. Далькэ

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, zakhozhiy@ib.komisc.ru

Металлическая ртуть, как и ее органические и неорганические соединения с другими элементами, обладает высокой токсичностью. Предельно допустимое содержание данного тяжелого металла в воздухе, воде и почве строго регламентировано. Основными источниками антропогенного загрязнения окружающей среды ртутью являются предприятия теплоэнергетики, черной и цветной металлургии, химической и электротехнической промышленности, предприятия по переработке промышленных и бытовых отходов. Значительные объемы загрязнения среды ртутью делают актуальной задачу оценки влияния этого поллютанта на функционирование экосистем и, в первую очередь, на растения как первичные продуценты органического вещества.

В данной работе представлены результаты изучения биоаккумуляции и влияния ртути на фотосинтетическую активность растений, произрастающих на загрязненной ртутью территории бывшего цеха по переработке и обогащению золоторудного концентрата.

Район исследований расположен в северной части Национального парка «Югыд ва» (Приполярный Урал), в подзоне крайне-северной тайги. Нами изучена территория выведенного из эксплуатации участка обогащения золотоносного концентрата, на котором располагались цех отжига ртути из амальгамы и помещения для хранения металлической ртути. Параллельно с этим нами обследован незагрязненный ртутью участок, который был выбран с учетом ландшафта местности и возможного направления миграции талых и грунтовых вод, находящийся на значительном удалении от загрязненной территории.

Объектом исследования служили четыре вида растений, встречаемых на обследованных территориях: иван-чай узколистный – *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop., щучка дернистая – *Deschampsia cespitosa* (L.) Beauv., купырь лесной – *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm. и дудник лесной – *Angelica sylvestris* L.

Реакцию растений на загрязнение среды ртутью характеризовали по показателям CO<sub>2</sub>-газообмена (измеренным с помощью ИК-газоанализатора LCPro<sup>+</sup>), функциональной активности фотосистемы 2 (ФС 2) (портативный флуориметр РАМ -2100), содержанию фотосинтетических пигментов (спектрофотометр UV-1700). Количественный химический анализ на содержание ртути в растительных и почвенных образцах проведен на спектрометре РА-915+ с приставкой ПИРО-915.

Анализ полученных данных показал, что валовое содержание ртути в корнеобитаемом слое почвы фонового участка составляло не более 140 мкг/кг, что соответствует средним значениям содержания ртути в органогенном горизонте почв таежной зоны Республики Коми, сформированных на суглинистых, песчаных и супесчаных породах (Низовцев и др., 2008).

На загрязненных участках содержание Hg в корнеобитаемом слое почвы варьировало в широких пределах – от 1080 до 24000 мкг/кг. Среднее значение содержания поллютанта в почве загрязненной территории (>10000 мкг/кг) превышало фоновое на 1,5 - 2 порядка. Полученные величины свидетельствуют о значительном загрязнении ртутью почвы на участке обогащения золотоносного концентрата - содержание металла в почве более чем в пять раз превышает установленную ПДК (2.1 мг/кг).

Содержание ртути в надземных органах растений (листья, стебли, генеративные органы) на фоновом участке варьировало от 2 до 67 мкг/кг сухой массы, в подземных от 5 до 110 мкг/кг. Нами выявлена значительная аккумуляция ртути растениями на загрязненной территории. По содержанию ртути органы растений располагались в следующий убывающий ряд: подземные органы (490-8100 мкг/кг сухой массы) >> листья (93-570 мкг/кг сухой массы) > стебли (12-180 мкг/кг сухой массы). Наибольшие концентрации металла в подземных органах отмечены для многолетнего злака *D. cespitosa*, а в надземных органах (листьях) у корневищного многолетника *C. angustifolium*. Содержание Hg в генеративных органах растений (< 10 мкг/кг) было существенно меньше, чем в специализированных органах фотосинтеза – листьях.

Считается, что ртуть оказывает негативное влияние на фотосинтез растений, нарушая световые и темновые реакции, подавляя синтез фотосинтетических пигментов (Patra, Sharma, 2000). Изучение пигментного комплекса растений показало, что техногенное загрязнение почвы ртутью не оказывало существенного влияния на содержание хлорофиллов и каротиноидов в листьях *C. angustifolium*, вместе тем содержание зеленых и желтых пигментов в листьях *D. cespitosa* на загрязненной территории было на 40 % меньше, чем у растений на фоновом участке. Вероятно, эффект ртутного загрязнения на пигментный аппарат растений зависит как от уровня загрязнения среды, так и от индивидуальной устойчивости вида к присутствию в среде Hg.

Исследования функциональной активности фотосинтетического аппарата (ФА) растений, проведенное с привлечением метода индуцированной флуоресценции хлорофилла свидетельствует о значительной устойчивости ФС 2 исследованных видов к ртутному загрязнению. Для большинства видов нами не выявлено достоверных различий величины максимального квантового выхода фотохимии ФС 2 (Fv/Fm) листьев растений на фоновом и загрязненных участках. Анализ световых зависимостей интенсивности фотохимии ФС 2 хлоропластов листьев растений на фоновой территории показал, что максимальные значения скорости транспорта электронов в ЭТЦ ФС 2 при насыщающей освещенности составляли 120, 220, 270 и 300 мкмоль/м<sup>2</sup>с у *Deschampsia cespitosa*, *Angelica sylvestris*, *Anthriscus sylvestris* и *Chamaenerion angustifolium* соответ-

ственно. Для *C. angustifolium* выявлено 10 – 30% снижение данного показателя у растений на загрязненных участках. Для остальных видов достоверных различий интенсивности фотохимии ФС 2 отмечено не было.

СО<sub>2</sub>–газообмен, отражает интенсивность фотосинтетического метаболизма углерода и является одним из наиболее информативных показателей изменения состояния растений под влиянием внешних факторов (Головко, 1999). Как следует из полученных нами данных, максимальная скорость видимого фотосинтеза составляла 6, 16, 18 и 20 мкмоль СО<sub>2</sub>/м<sup>2</sup>с у *Deschampsia cespitosa*, *Anthriscus sylvestris*, *Chamaenerion angustifolium* и *Angelica sylvestris* соответственно. Загрязнение среды ртутью приводило к 2-3-кратному подавлению ассимилирующей активности листьев у всех видов, за исключением *Angelica sylvestris*. Темновое дыхание листьев растений в большинстве случаев так же имело более низкие интенсивности по сравнению с данным показателем у растений на фоновой территории.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлена положительная корреляция между содержанием ртути в растениях и почве. С увеличением меркуризации корнеобитаемого слоя почвы концентрация Hg в надземных органах изученных видов растений возрастала в несколько раз, а в подземных – на 2-3 порядка. Это свидетельствует о высокой способности подземных органов изученных видов ограничивать поступление поллютанта в надземные органы. Техногенное загрязнение почвы ртутью не оказывало существенного влияния на функциональную активность ФС 2 фотосинтетического аппарата растений. Вместе с тем присутствие в почве ртути, в концентрациях значительно превышающих ПДК, вызывало 2-3-кратное подавление ассимилирующей способности листьев большинства исследованных видов.

#### Литература

Головко Т.К. Дыхание растений (физиологические аспекты). – СПб.: Наука, 1999. – 204 с.

Низовцев А.Н., Безносиков В.А., Кондратенко Б.М., Лодыгин Е.Д. Фоновое содержание ртути в почвах таежной зоны Республики Коми // Теоретическая и прикладная экология, 2008.– №1. – С. 45-50.

Patra M., Sharma A. Mercury Toxicity in Plants // Botanical Review, 2000. – V. 66. – P. 379-422.

### **МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НАНОЧАСТИЦ ПЛАТИНЫ НА ПРОРОСТКИ ПШЕНИЦЫ**

А.П. Зотикова<sup>1,2</sup>, Т.П. Астафурова<sup>1</sup>, С.И. Михайлова<sup>1</sup>, О.Г. Бендер<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Томский государственный университет, Томск

<sup>2</sup>Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН, Томск, zotik.05@mail.ru

Актуальность изучения концентрационных эффектов наночастиц обусловлена непредсказуемостью их взаимодействия с растительной клеткой, а, следовательно, необходимостью определения зависимости доза–эффект для каждого класса наночастиц и различных биообъектов. Токсические эффекты наночастиц металлов или их соединений проявляются чаще всего в изменении функций биообъектов. Взаимодействуя с различными структурами клетки, наночастицы могут выступать в роли катализаторов в различных реакциях с образованием не только стимуляторов роста и развития, но и их ингибиторов [Lin D., 2007]. Известно, что наночастицы платины проявляют ярко выраженную регенерирующую способность, связанную с

высокой антиоксидантной активностью, что успешно используется в косметологии, а также обладают уникальными каталитическими свойствами: высокой активностью и селективностью [Ершов, 2008]. Растительные организмы являются разнообразными и доступными объектами, использование которых в скрининг-исследованиях дает возможность оценить как специфичность воздействия наночастиц, так и их дозозависимые эффекты. Имеющиеся литературные сведения по биотестированию наночастиц крайне противоречивы, трудно сопоставимы как по дозам и размерности наночастиц, так и по видам растений [Borm et al., 2006; Ma, 2008; Чурилов, Амплеева, 2010; Астафурова и др., 2011; Моргалев и др., 2012] и ограничены в основном попытками оценить чувствительность растений по изменению морфологических показателей.

Цель данной работы состояла в исследовании аккумуляции наночастиц платины в органах растений пшеницы из дисперсной системы (ДС) и почвенного субстрата, содержащих наночастицы платины ( $\text{НЧ}_{\text{Pt}}$ ) размером 5 нм различной концентрации, а также выявления изменений морфофизиологических показателей под влиянием этих наночастиц.

Объектом исследования служили водные и почвенные культуры 10-дневных растений мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), сорта Новосибирская – 29, которые выращивали в лабораторных условиях в климатической камере. Наночастицы металлической платины сферической формы диаметром от 1,5 до 25 нм и  $\Delta_{50} = 5$  нм, с удельной поверхностью  $30 \text{ м}^2/\text{г}$ , получали описанными ранее методами лазерной абляции в дистиллированной воде из брусков платины высокой степени чистоты (99,97%). Необходимые концентрации дисперсных систем  $\text{НЧ}_{\text{Pt}}$  получали разведением исходных ДС и последующей 5 - минутной обработкой ультразвуком [Моргалев и др., 2012]. Количественные характеристики поглощения наночастиц из субстратов определяли по их содержанию в гомогенатах из корней и надземной части (листья, стебель) растений методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS). Морфометрические изменения оценивали по длине корневой системы, высоте проростков и массе органов. Для измерения интенсивности фотосинтеза и транспирации использовали портативный инфракрасный газоанализатор Li-6400XT (LI-COR, USA) с открытой системой.

Как показали масс-спектрометрические исследования проб контрольного и опытного вариантов в результате 10-дневного выращивания растений на дисперсионной среде, содержащей наночастицы платины в концентрации 10 мг/л, происходит существенное накопление наночастиц, причем особенно высокое их содержание отмечено в корнях растений, что составляло почти 100-кратное превышение их количества в надземной части (табл. 1). При выращивании растений на почве, содержащей аналогичную концентрацию наночастиц, аккумуляция  $\text{НЧ}_{\text{Pt}}$ , как в корнях, так и надземной части была более низкая. На границе корень – стебель существует физиологический барьер, так называемый узел кущения, и корни растений выступают первой мишенью и одновременно первым мощным барьером на пути транспорта веществ, в результате избирательной фильтрации корни накапливают наночастицы в значительных количествах, что в большей степени сказывается на процессах формирования и развития корневой системы.

Под влиянием накопленных наночастиц происходят морфометрические изменения, в частности увеличивается длина корня и высота проростков. Под влиянием наночастиц платины концентрации 10 мг/л происходят, в основном, положительные эффекты. Высота проростков под влиянием наночастиц платины изменяется незначительно, вместе с тем их масса достоверно возрастает (табл.2).

Изучение влияния наночастиц платины размером 5 нм различной концентрации на интенсивность транспирации в листьях пшеницы в лабораторном эксперименте по-

казало, что даже низкие концентрации  $\text{HЧ}_{\text{Pt}}$  0,01 и 0,1 мг/л немного повышали данный

**Таблица 1**

**Содержание наночастиц платины в водных и почвенных культурах пшеницы**

Вариант	Содержание наночастиц платины, мкг/г сырой ткани			
	Водные культуры		Почвенные культуры	
	Корни	Надземная часть	Корни	Надземная часть
Контроль	0,0012 ± 0,0001	0,00062 ± 0,00010	0,0016 ± 0,00005	≤ 0,0001
Опыт	42,96 ± 8,69	0,44 ± 0,08	0,81 ± 1,16	0,10 ± 0,02

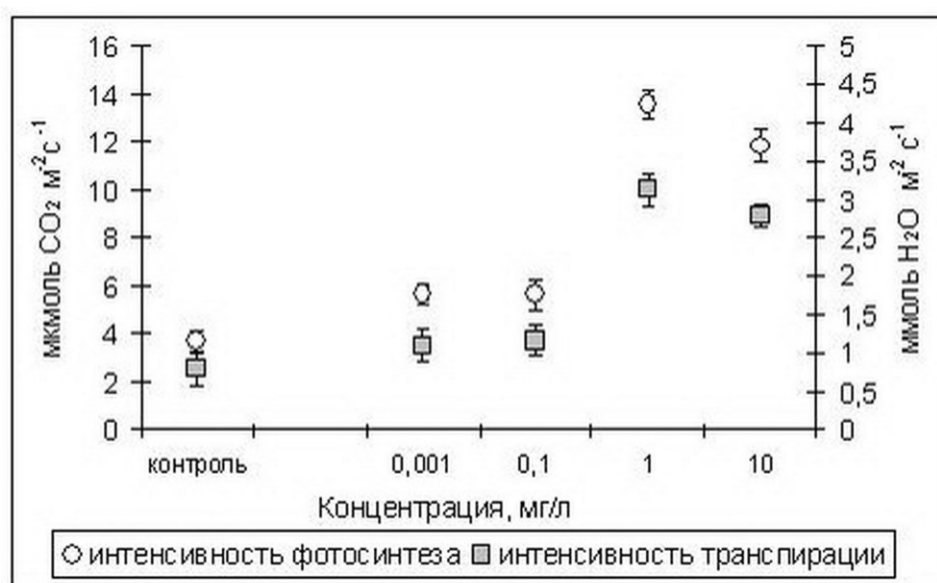
**Таблица 2**

**Морфометрические параметры проростков пшеницы, выращенных на дисперсионной среде, содержащей наночастицы платины в концентрации 10 мг/л**

Вариант	Корень		Надземная часть	
	Длина, см	Масса, мкг	Высота, см	Масса, мкг
Контроль	6,67 ± 0,28	31 ± 0,0	16,33 ± 0,85	93 ± 0,3
Опыт	9,22 ± 0,72*	38* ± 0,1	17,93 ± 0,87	100* ± 0,1

Примечание: знаком \* отмечены достоверные отличия

показатель, а высокие 1 и 10 мг/л в 3 или более раз увеличивали его. Это может способствовать лучшему поглощению воды и питательных веществ корневой системой. Кроме того, присутствие в дисперсионной среде наночастиц платины всех исследованных концентраций: 0,01; 0,1; 1,0 и 10 мг/л увеличивало интенсивность фотосинтеза в листьях пшеницы, при этом наиболее эффективной была концентрация 1 мг/л (рис.). Особенности адаптивных реакций ассимиляционного аппарата на концентрационное воздействие  $\text{HЧ}_{\text{Pt}}$  аналогичны специфике роста проростков, что подтверждается данными о том, что между фотосинтезом и ростовыми процессами существует очень тесная взаимозависимая связь, которая регулируется как метаболическими, так и гормональными механизмами [Мокроносов, 1983].



**Рисунок – Зависимость интенсивности транспирации и фотосинтеза от концентрации наночастиц платины в дисперсионной среде.**



Таким образом, модифицирующий эффект  $\text{HCl}$  в диапазоне концентраций 0,01 – 10 мг/л на изучаемые показатели неоднозначен, выявлены изменения ростовых и весовых параметров и состояния листового аппарата у проростков пшеницы, что свидетельствует о том, что наночастицы платины активно вмешиваются в сложный механизм регуляции роста и развития растений.

#### Литература

Астафурова Т.П., Моргалев Ю.Н., Зотикова А.П. и др. Влияние наночастиц диоксида титана и оксида алюминия на морфофизиологические параметры растений // Вестник Томского ун-та. Биология, 2011.– № 1 (13). С.113–122.

Ершов Б.Г. Наночастицы платины и палладия в водных растворах: оптические и каталитические свойства // Современные проблемы физической химии наноматериалов. – М.: Граница, 2008. – С.243–255.

Мокронос А.Т. Интеграция функций роста и фотосинтеза // Физиология растений, 1983. – № 30. Вып. 5. – С. 868–880.

Моргалёв Ю.Н., Астафурова Т.П., Боровикова Г.В., Зотикова А.П., Зайцева Т.А., Постовалова В.М., Верхотурова Г.С., Моргалёва Т.Г. Аккумуляция наночастиц платины в растениях пшеницы и гороха и особенности их морфологических изменений // Нанотехника, 2012.– № 3 (31). – С.81-86.

Чурилов Г.И., Амплеева Л.Е. Биологическое действие наноразмерных металлов на различные группы растений. – Рязань, 2010. – 156 с.

Borm P.J., Robbins D., Haubold S. et al. The potential risks of nanomaterials: A review carried out for ECETOC. // Part Fibre Toxicology, 2006. – № 3. – P.11–23.

Lin D. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth // Environmental Pollutants, 2007. – Vol. 150, № 2. – P. 243–250.

Ma P. X. Biomimetic materials for tissue engineering // Adv. Drug Deliv. Rev., 2008. – V. 60. – P. 184–198.

## МЕХАНИЧЕСКИЙ СТРЕСС И РАСТИТЕЛЬНАЯ КЛЕТОЧНАЯ СТЕНКА ЖЕЛАТИНОЗНОГО ТИПА

Н.Н. Ибрагимова, Н.Е. Мокшина, Т.А. Горшкова

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, nibra@yandex.ru

Успешная адаптация растений к различным экологическим нишам напрямую связана со способностью формировать клеточные стенки сложного состава. У всех растительных клеток существует первичная клеточная стенка (КС), которая примыкает к срединной пластинке; клетки некоторых растительных тканей (как правило, механических) способны формировать вторичную КС. Наиболее известный тип вторичной клеточной стенки – ксилановый, построенный из трех основных полимеров: целлюлозы, ксилана и лигнина, присутствующих примерно в равной пропорции. Между тем существует совершенно иной тип вторичной КС – желатинозный (G), который резко отличается от первого по составу и расположению микрофибрилл. Ксилан и лигнин практически полностью отсутствуют. Доля целлюлозы составляет до 85% от сухой массы клеточной стенки. Желатинозная КС формируется у волокон при необходимости создания натяжения, например, при возвращении в вертикальное положение согнутого стебля древесного растения или для предотвращения полегания тонкостебельного травянистого побега. Наличие натяжения микрофибрилл целлюлозы в желатинозных слоях экспериментально показано для реакционной древесины тополя [Yamamoto et al., 2005; Fang

et al., 2008]. Механизм создания натяжения на сегодняшний день остается дискуссионным. Было выдвинуто много предположений, которые сводятся, в основном, к двум ключевым гипотезам. Согласно первой гипотезе, желатинозные слои в результате набухания оказывают давление на наружные ксилановые слои, что вызывает их радиальное расширение и продольное сжатие [Burgert, Fratzl, 2009]. В пользу этой гипотезы говорит измерение деформации в древесине после энзиматического удаления G-слоев [Goswami et al., 2008]. В этом случае оставшиеся S-слои тангентально сжимались, свидетельствуя о том, что в норме G-слои оказывают давление на смежные с ними S-слои. Эти предположения находят свои подтверждения и в том, что желатинозные слои обладают большей гигроскопичностью и пористостью [Clair et al., 2008].

Альтернативная гипотеза создания натяжения основана на латеральном взаимодействии микрофибрилл целлюлозы при попадании между ними полисахаридов матрикса [Mellerowicz et al., 2008]. Микрофибриллы целлюлозы в волокнах, формирующих клеточную стенку желатинозного типа, характеризуются большими размерами кристаллических участков [Sturcova et al., 2004]. Рентгеноструктурный анализ позволил установить, что диаметр сечения кристаллов целлюлозы в G-слое волокон древесины натяжения (6.5 нм) существенно больше, чем в соседнем S-слое (около 3 нм), соответственно, площадь сечения увеличена примерно в четыре раза [Muller et al., 2006]. На основании этого E. Mellerowicz с соавторами (2008) высказана идея, что микрофибриллы целлюлозы, взаимодействуя латерально, захватывают между собой матриксные полисахариды. Присутствие между микрофибриллами целлюлозы «запечатанного» полисахарида – ксилоглюкана, как считают авторы, приводит к некоторому их натяжению, которое и лежит в основе особых механических свойств желатинозных волокон, обеспечивая реализацию их функций. Хотя термин «G-слой» особенно часто употребляют для волокон древесины натяжения, все его базовые характеристики полностью приложимы и ко многим другим волокнам, например, флоэмным волокнам многих волокнистых культур (лен, конопля, рами и др.), что позволяет объединять их в одну группу – волокна с клеточной стенкой желатинозного типа. Согласно приведенным гипотезам, в создании натяжения, ключевую роль могут играть пектины ввиду своей высокой гигроскопичности и/или наличие галактана, как показано нами ранее, в слоях высоко кристаллической целлюлозы [Gurjanov et al., 2008]. В данном исследовании с помощью моносхаридного и иммунохимического анализа мы оценивали экстрагируемые солями пектины из ксиланового и желатинозного типов вторичных КС в процессе их формирования. Экстракция проводилась из КС одних и тех же фрагментов стебля льна, которые легко разделяются на ксилемную и флоэмную части, выравниваемые нами по весу. Обнаружено принципиальное количественное отличие как в целом по пектиновой фракции, так и по отдельным полисахаридам (галактаны, арабиногалактаны и арабинаны, т.е. полисахариды, которые могут быть боковыми ответвлениями рамногалактуронана I), содержание которых в желатинозном типе КС на порядок превышало таковое в ксилановом (рис. 1, 2). Таким образом, формирование клеточной желатинозного типа с высоким содержанием целлюлозы и практически отсутствием лигнина, а также с более высоким содержанием пектинов «в лице» рамногалактуронана I, позволяет, по всей видимости, растению быть устойчивым к динамичным механическим воздействиям. Приблизиться к пониманию механизма сигналинга и рецепции подобного ответа позволит, возможно, дальнейшая характеристика идентифицированного нами методами протеомики в волокнах льна, формирующих клеточную стенку желатинозного типа, механочувствительного мембранного белка (Lus10022654). Подобного типа белки ответственны за детекцию механического стимула, но молекулярная функция этих белков в настоящий момент остается загадкой.

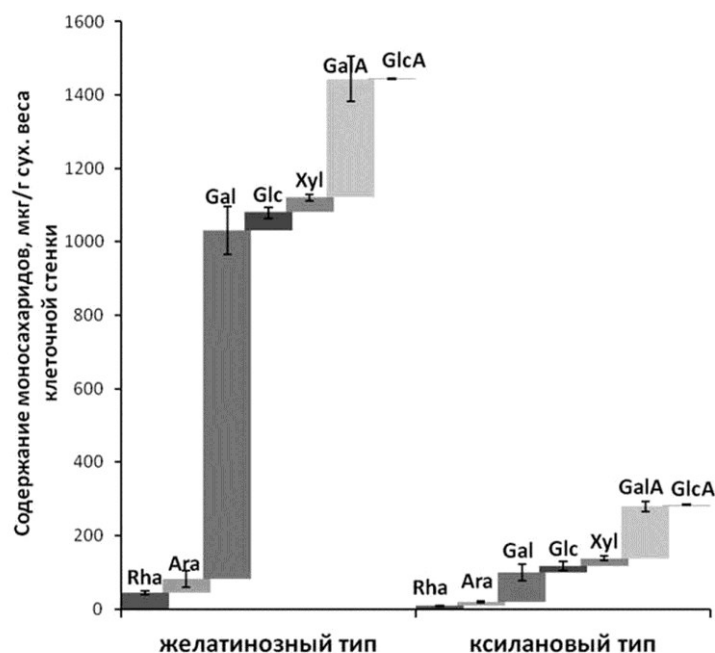


Рис. 1. Содержание моносахаридов во фракциях, экстрагируемых 0.2M CaCl<sub>2</sub> и 2M LiCl из клеточных стенок флоэмных волокон льна (желатинозный тип) и клеточных стенок ксилемной части стебля льна (ксилановый тип).

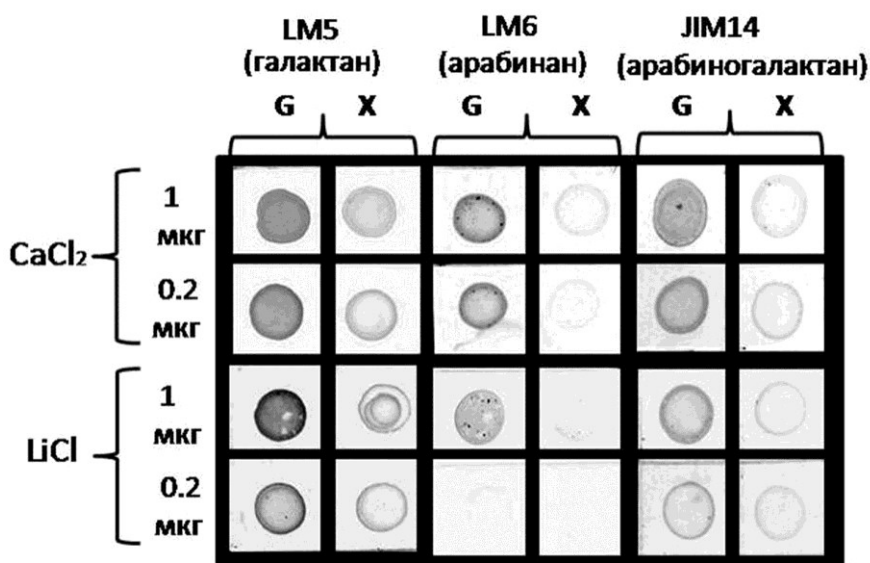


Рис. 2. Иммуноферментный анализ фракций полимеров, экстрагируемых 0.2M CaCl<sub>2</sub> и 2M LiCl из клеточной стенки флоэмных волокон льна (G – желатинозного типа) и клеточных стенок ксилемной части стебля льна (X – ксиланового типа) с использованием специфичных моноклональных антител: LM5 – специфичных к тетрамерам 1,4-связанной галактозы (галактану); LM6 – узнающих 1,5-арабинан; JIM14 – специфичных для углеводной части арабиногалактановых белков. На нитроцеллюлозные мембраны наносили одинаковое количество фракций (1 или 0.2 мкг).

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов РФФИ №№ 11-04-01602, 12-04-31418 и грантом по гос. поддержке ведущих научных школ РФ НШ-825.2012.4

## Литература

Burgert I., Fratzl P. Plants control the properties and actuation of their organs through the orientation of cellulose fibrils in their cell walls // *Integr. Comp. Biol.*, 2009. – V. 49. – P. 69-79.

Clair B., Gril J., Renzo F. Di, Yamamoto H., Quignard F. Characterization of a Gel in the Cell Wall To Elucidate the Paradoxical Shrinkage of Tension Wood // *Biomacromol.*, 2008. – V. 9. – №2. – P. 494-498.

Fang C.H., Clair B., Gril J., Liu S.Q. Growth stresses are highly controlled by the amount of G-layer in poplar tension wood // *IAWA J.*, 2008. – V. 29. – P. 237-246.

Goswami L., Dunlop J.W.C., Jungnickl K., Eder M., Gierlinger N., Coutand C., Jeronimidis G., Fratzl P., Burgert I. Stress generation in the tension wood of poplar is based on the lateral swelling power of the G-layer // *Plant J.*, 2008. – V. 56 – P. 531-538.

Gurjanov O.P., Ibragimova N.N., Gnezdilov O.I., Gorshkova T.A. Polysaccharides, tightly bound to cellulose in the cell wall of flax bast fibre: Isolation and identification // *Carbohydr. Research.*, 2008. – V. 72. – P. 719-729.

Mellerowicz E.J., Immerzeel P., Hayashi T. Xyloglucan: The Molecular Muscle of Trees // *Ann. of Bot.*, 2008. – V. 102. – №5. – P. 659-665.

Muller M., Burghammer M., Sugiyama J. Direct investigation of the structural properties of tension wood cellulose microfibrils using microbeam X-ray fibre diffraction // *Holzforshung.*, 2006. – V. 60. – P. 474-479.

Sturcova A., His I., Apperley D.C., Sugiyama J., Jarvis M.C. Structural details of crystalline cellulose from higher plants // *Biomacromol.*, 2004. – V. 5. – P. 1333-1339.

Yamamoto H., Abe K., Arakawa Y., Okuyama T., Gril J. Role of the gelatinous layer (G-layer) on the origin of the physical properties of the tension wood of *Acer sieboldianum* // *J. Wood Sci.*, 2005. – V. 51. – P. 222-233.

## **НЕСПЕЦИФИЧНОСТЬ ИЗМЕНЕНИЙ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПЕРЕНОСА ВОДЫ В КОРНЕ КУКУРУЗЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ДАВЛЕНИЯ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ**

И.Ф. Ионенко, Т.А. Сибгатуллин, А.В. Анисимов

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, ionenko@mail.knc.ru

Применительно к исследованию транспортных процессов в растениях не вызывает сомнения причастность давления в разных его проявлениях к обеспечению движущей силы переноса водных растворов. Согласно известной модели композитного транспорта [Steudle & Peterson 1998] природа движущей силы определяет преимущественный путь потока воды: либо через протопласты с пересечением мембран (трансклеточный путь), либо в обход протопластов по апопласту. Однако до сих пор дискутируется значимость для водопереноса осмотических и гидростатических сил как основных составляющих водного потенциала. В последнее время все большее предпочтение в качестве основного пути на участке радиального переноса воды отдается трансклеточному пути (даже в условиях действия гидростатических сил) [Knipfer & Fricke 2011; Fritz & Ehwald 2011] и большая роль при этом отводится аквапоринам. В этой связи представляют интерес исследования эффектов давления на водопроводящую активность аквапоринов [Wan et al. 2004].

Целью работы было исследовать динамику диффузионного транспорта воды в корне кукурузы при изменении движущей силы, моделируемой внешним давлением (осмотическим, гидростатическим, гидродинамическим), и выявить вклад трансмем-

бранного переноса воды через аквапорины в раннем ответе на воздействия. В качестве воздействий на гидродинамическую систему корня использовали: 1 - осмотическое давление, создаваемое с помощью раствора ПЭГ-6000 (-0,5 МПа); 2 - гидростатическое давление, создаваемое сжатым воздухом (0,5 – 4 МПа); 3 - одномерное давление, возникающее при действии центробежной силы (0,2 – 0,5 МПа). Для выявления роли аквапоринов в ответе на внешнее давление использовали ингибиторы с разным механизмом действия – растворы хлорида ртути (0,1 мМ) и пропионовой кислоты (20 мМ). Методом исследования был импульсный ЯМР-стимулированное эхо [Tanner 1970], регистрирующий диффузионное смещение молекул воды по объему образца, помеченного градиентом магнитного поля, за некоторое заданное время диффузии. Количественная оценка диффузионного пробега проводилась из анализа диффузионного затухания (ДЗ) сигналов спинового эха. Коэффициенты диффузии (D) определяли из наклона касательной к конечному участку кривой ДЗ, характеризующему водопроницаемость мембран, с помощью соотношения:  $R = \exp[-\gamma^2 \delta^2 g^2 (t_d - 1/3 \delta)] D$ , где  $\delta$  и  $g$  – длительность и амплитуда градиентных импульсов,  $t_d$  – интервал между импульсами (время диффузии),  $\gamma$  гиромагнитное отношение. Измерения ДЗ проводились на участке радиального транспорта воды в целых корнях.

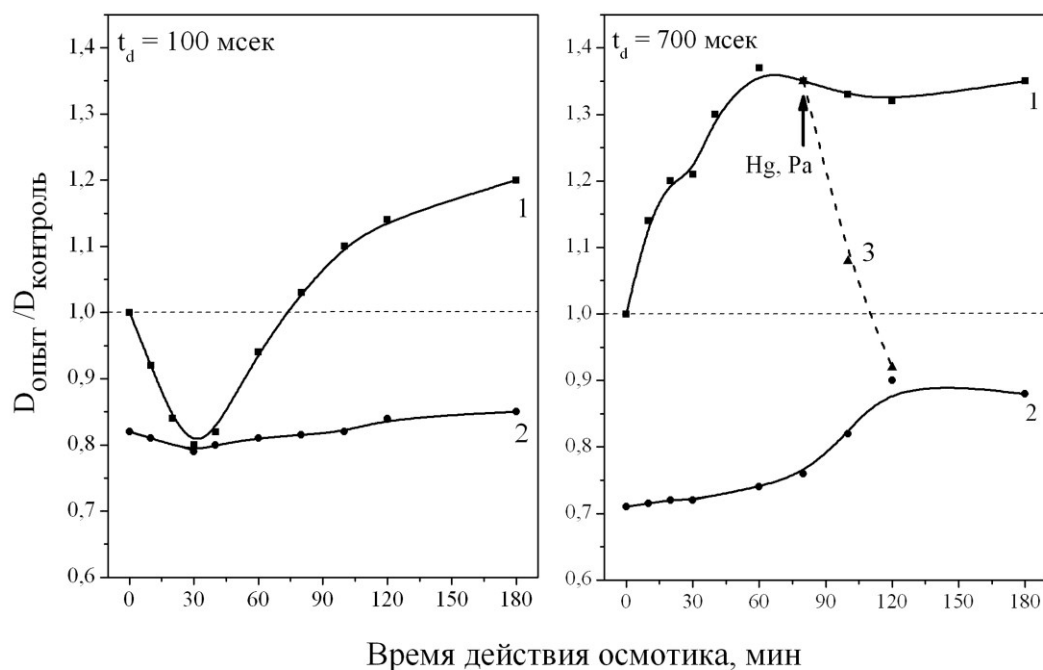
### Результаты исследований

Характер зависимости коэффициента диффузии воды (D), характеризующего мембранную водопроницаемость, от интенсивности и продолжительности действия давления был различен при разных временах диффузии (рис.1, 2). При  $t_d = 100$  мсек наблюдался двухфазный ответ на действие осмотического и гидростатического давления: начальное уменьшение и последующее увеличение  $D_{ef}$  на 20-30%. При  $t_d = 700$  мсек наблюдалась аддитивность эффекта (постепенное увеличение D) при усилении интенсивности (длительности) воздействия. Учитывая факт, что при увеличении времени диффузии перераспределяется вклад в измеряемом ДЗ воды вакуоли, цитоплазмы и апопласта с отличающимися временами релаксации  $T_1$ , различную динамику изменения D при разных  $t_d$  логично объяснить неодинаковым влиянием давления на водопроницаемость плазмалеммы и тонопласта.

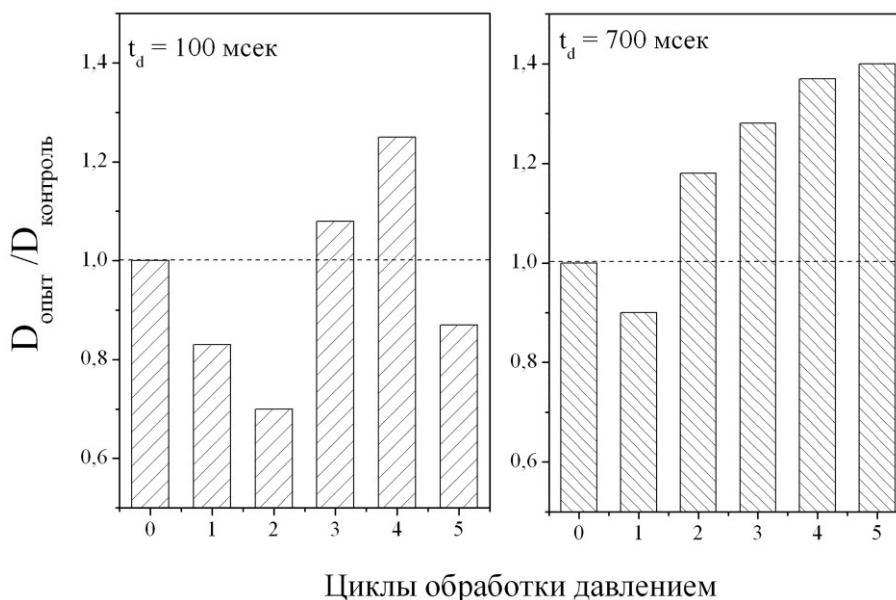
Для выявления возможных изменений активности аквапоринов при действии давления различной природы, были использованы блокаторы: хлорид ртути и пропионовая кислота. Было показано: 1 - отсутствие реакции на действие давления у предварительно обработанных ингибитором корней (рис.1, кривая 2); 2 - отсутствие аддитивности эффекта снижения D при действии ингибитора на корни, подвергнутые действию давления (на фазе с уменьшенным D при  $t_d = 100$  мсек). Это свидетельствует о непосредственном участии в ответной реакции на действие давления аквапоринов плазмалеммы и тонопласта (PIР и TIР). Сохранение чувствительности к действию блокаторов у корней, подвергнутых действию осмотика (рис.1, кривая 3) свидетельствует о сохранении активности TIР. В случае действия гидростатического давления увеличение проницаемости тонопласта после цикла, включающего 4 МПа (рис. 2,  $t_d = 700$  мсек, ст. 4), обусловлено нарушением активности TIР, поскольку терялась чувствительность к блоктору.

Сходные изменения в трансмембранном переносе воды наблюдали и при действии одномерного давления, вызванного действием центробежной силы (данные не приводятся). Для оценки вклада каждого из воздействий в усиление трансклеточного переноса воды были рассчитаны величины приращения D (в %) на единицу давления (1 МПа):  $\Delta D/P_{osm} = 30 \div 60$ ,  $\Delta D/P_{hydrost} = 7 \div 10$ ,  $\Delta D/P_{one-dim} = 40 \div 60$ . Сравнение двух первых величин приращения показывает, что они различаются в 5-6 раз. Это находится в соответствии с моделью композитного транспорта воды, согласно которой путь преимущественного потока воды в корне определяется природой движущей силы: трансклеточ-

ный – осмотическими силами, апопластный – гидростатическими [Steudle & Peterson 1998].



**Рис. 1.** Трансмембранный перенос воды (при разных  $t_d$ ) в зависимости от длительности действия осмотика (ПЭГ-6000): 1 – контроль (без блокатора); 2 – предварительная обработка  $\text{HgCl}_2$  (0.1 мМ, 20 мин); 3 – обработка блокаторами корней, подвергнутых действию осмотика (стрелкой обозначено время обработки растворами  $\text{HgCl}_2$  и пропионовой кислоты (Pa)).



**Рис. 2.** Трансмембранный перенос воды (при разных  $t_d$ ) в зависимости от интенсивности воздействия гидростатическим давлением: 0 – контроль (без давления); 1 – 0.5 МПа; 2 – 0.5+1 МПа; 3 – 0.5+1+2.5 МПа; 4 – 0.5+1+2.5+4 МПа; 5 – 0.5+1+2.5+4 МПа+ $\text{HgCl}_2$ . Воздействие проводилось циклами: подача/сброс давления.

Таким образом, эксперименты с действием давления различной природы позво-

лили выявить ряд общих особенностей в изменении параметра водопереноса (D). Показано, что в ранний ответ корней (до 1 часа) на действие давления (диапазон физиологических значений) могут быть вовлечены разнонаправленные изменения водопроницаемости плазмалеммы и тонопласта, связанные с изменением активности аквапоринов. Данные изменения могут иметь адаптивный характер. Рост интенсивности трансмембранного переноса воды при увеличении гидростатического давления свыше 2,5 МПа (диапазон гиперфизиологических значений) связан с началом деструктивных изменений тонопласта. Последнее подтверждается электронно-микроскопическими данными.

*Работа поддержана грантом РФФИ (№ 13-04-01203)*

#### Литература

Fritz M, Ehwald R. Mannitol permeation and radial flow of water in maize roots // *New Phytologist*, 2011. – V.189. – P. 210–217.

Knipfer T, Fricke W. Water uptake by seminal and adventitious roots in relation to whole-plant water flow in barley (*Hordeum vulgare* L.) // *Journal of Experimental Botany*, 2011. – V.62. – P. 717–733.

Steudle E., Peterson C.A. How does water get through roots? // *Journal of Experimental Botany*, 1998. – V.49. – P. 775–788.

Wan X., Steudle E., Hartung W. Gating of water channels (aquaporins) in cortical cells of young corn roots by mechanical stimuli (pressure pulses): effects of ABA and of HgCl<sub>2</sub> // *Journal of Experimental Botany*, 2004. – V. 55. – P. 411-422.

### **АКТИВНОСТЬ НАДФН-ОКСИДАЗЫ В КОРНЯХ ЭТИОЛИРОВАННЫХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РИЗОБИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ И ИОНОВ КАЛЬЦИЯ**

А.А. Ищенко, А.К. Глянько, Н.Б. Митанова, Г.Г. Васильева

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, [akglyanko@sifibr.irk.ru](mailto:akglyanko@sifibr.irk.ru)

Мутуалистический симбиоз между клубеньковыми бактериями (*Rhizobium leguminosarum*) и бобовыми растениями (*Leguminosae*) – уникальное биологическое явление, изучение теоретических основ которого важно в практическом аспекте. Бактериальные сигнальные молекулы – липохитоолигосахариды – Nod-факторы (NF), воспринимаются эпидермальными клетками корня, на плазмалемме которых локализованы рецептор-подобные киназы (RLK). Молекулярное взаимодействие NF и RLK вызывает определенные ответы макросимбионта - ионные изменения, защелачивание цитоплазмы, колебания концентрации Ca<sup>2+</sup> и экспрессию генов, которые приводят к бактериальной инвазии и формированию клубенька [Oldroyd et al., 2004]. Флуктуации в уровне цитозольного Ca<sup>2+</sup>, наблюдаемые спустя 10-15 мин после индукции потока кальция в цитоплазму [Shaw, Long, 2003], вызывают с участием активированной Ca<sup>2+</sup>-кальмодулинзависимой киназы фосфорилирование белков – транскрипционных факторов, дальнейшую трансдукцию NF-сигнала и экспрессию ядерных симбиотических генов [Hayashi et al., 2010]. Кроме ионов Ca<sup>2+</sup> сигнальную роль на ранних этапах симбиоза играют активные формы кислорода (АФК), такие как O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и др. [Foreman et al., 2003]. При этом НАДФН-оксидаза, локализованная на плазматической мембране клетки, является важным источником генерации АФК в растениях. Ингибирование активности НАДФН-оксидазы ведет не только к уменьшению генерации АФК, но и к торможению образования инфекционных нитей при симбиозе люцерны и *Sinorhizobium meliloti* [Cardenas et al., 2008]. Предполагается, что АФК и Ca<sup>2+</sup> являются основными

сигнальными элементами в механизме регуляции активности мембранной НАДФН-оксидазы у растений [Глянько, Ищенко, 2010]. При мутуалистических взаимодействиях АФК способствуют развитию симбиоза, но с другой стороны выполняют защитную роль как сигнальные и цитотоксические соединения [Marino et al., 2012]. Однако роль НАДФН-оксидазы и связанного с ее функциональной активностью  $\text{Ca}^{2+}$  в симбиотических взаимодействиях до конца не ясна. Считают, что ионы кальция могут обеспечить непосредственное стимулирование активности фермента [Sagi, Fluhr, 2006]. В связи с этим цель настоящей работы заключалась в изучении влияния ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на функциональную активность НАДФН-оксидазы в корнях этиолированных проростков гороха и влияние клубеньковых бактерий на этот процесс.

**Методика.** Объект исследований – 48-час. этиолированные проростки гороха посевного (*Pisum sativum* L.), сорт Ямальский, выращенные в пластмассовых кюветах на влажной фильтровальной бумаге при 22°C. Проростки инокулировали клубеньковыми бактериями *Rhizobium leguminosarum* bv *viceae* эффективного производственного штамма 1060 в концентрации  $2 \times 10^8$  клеток/мл (1 мл/проросток). Контроль – неинокулированные растения. Проростки инкубировали на соответствующих вариантах опытов растворах изучаемых соединений в течение 5, 10, 20 и 30 мин. В исследованиях применяли экзогенный кальций (100 мкМ  $\text{CaCl}_2$ ), а интенсивность потока в клетках эндогенного кальция изменяли путем действия на проростки активатора  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов амиодарона в концентрации 300 мкМ и блокатора  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов хлорид лантана (400 мкМ). В качестве поглотителя (хелатора) ионов  $\text{Ca}^{2+}$  использовали 100 мкМ раствор этиленгликоль тетрауксусной кислоты (ЭГТА). Микросомальную клеточную фракцию выделяли с помощью дифференциального центрифугирования. Супернатант, содержащий цитозольную фракцию, отделяли, а осадок микросомальная фракция, включающая в себя плазмалемму, тонопласт, мембраны аппарата Гольджи и эндоплазматический ретикулум, суспендировали в том же буфере, который использовали для гомогенизации корней. В полученной таким образом микросомальной фракции измеряли НАДФН-оксидазную активность [Глянько и др., 2010]. Содержание белка в ферментном препарате определяли с красителем амидо-черным [Бузун и др., 1982]. Средние значения и их стандартные ошибки вычислены из трех независимых экспериментов, каждый из которых состоял из трех повторений. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что на фоне экзогенного  $\text{CaCl}_2$  (100 мкМ) наблюдались колебания в активности НАДФН-оксидазы: повышение через 5 и 20 мин (на 56 и 80% соответственно) и снижение - в первом случае до уровня контроля, во втором на 40% ниже контроля. Эти данные, очевидно, свидетельствуют о наличии в растительных клетках механизма, регулирующего активность НАДФН-оксидазы путем изменения концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . При этом первая фаза связана с притоком  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазму и вызывает активацию фермента, а вторая – обусловлена накоплением  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме и ведет к снижению активности фермента. По мнению Wong et al. [2007] основным фактором, модулирующим активность НАДФН-оксидазного ферментного комплекса, является концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме растительной клетки, регулирующей взаимодействие между субъединицами фермента – цитозольной Рас-ГТФазы и мембранной субъединицей  $\text{gp91}^{\text{phox}}$ , гомологичной субъединице НАДФН-оксидазы (NOX2) из животных клеток. Однако по данным Sagi, Fluhr [2006] НАДФН-оксидаза растений может продуцировать  $\text{O}_2^{\cdot-}$  и в отсутствие цитозольного компонента Рас-ГТФазы. Таким образом, увеличение образования АФК при активации НАДФН-оксидазы может вызывать вторую фазу накопления кальция в цитоплазме в результате стимулирования открытия  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов на плазмалемме и это является возможной причиной ингибирования активности фермента. Добавление в среду с  $\text{CaCl}_2$  хелатора



кальция – ЭГТА, приводило к снижению активности изучаемого фермента до уровня контроля (экспозиция 20 мин). Это свидетельствует о вовлечении кальция в регуляцию активности НАДФН-оксидазы в корнях, что проявляется как в увеличении, так и в снижении активности НАДФН-оксидазы и может быть связано с регуляцией уровня АФК в клетке.

Из других полученных данных следует, что инокуляция проростков ризобиями приводила через 5 мин к увеличению активности фермента в 3,9 раза по сравнению с контролем (растения без инокуляции). Возможный механизм активации фермента также может быть связан с  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазом. По данным Shaw, Long [2003] спустя 1-5 мин после ризобияльной инфекции наблюдается быстрый приток ионов кальция в цитоплазму. Предполагается, что цитозольные потоки кальция активируют  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимые протеинкиназы, которые фосфорилируют N-терминальный участок НАДФН-оксидазы и тем самым активируют фермент [Kobayashi et al., 2007]. Влияние ризобий на  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы, очевидно, обусловлено взаимодействием бактериального NF и растительного рецептора (RLK), что ведет к открыванию  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов и усилению притока кальция в цитоплазму. Считают, что кальций и кальмодулинзависимая киназа являются ключевыми медиаторами симбиотического взаимодействия [Yano et al., 2008].

Чтобы проверить предположение об активации НАДФН-оксидазы ризобияльной инфекцией через ее влияние на поток  $\text{Ca}^{2+}$  из внеклеточного пространства в цитоплазму, были проведены опыты с амиодароном – активатором  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов [Courchesne, Ozturk, 2003] и блокатором каналов – хлоридом лантана [Huetter et al., 1998]. Полученные данные свидетельствуют о том, что амиодарон в применяемой концентрации сам по себе стимулирует активность фермента на 30% по сравнению с контролем, а в сочетании с ризобияльной инокуляцией снимает стимулирующее влияние ризобий на активность фермента до уровня контроля, уменьшая его активность в 3,4 раза. Таким образом, стимуляция активности НАДФН-оксидазы под влиянием амиодарона в концентрации 300 мкМ говорит об участии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в функционировании фермента. Снижение активности НАДФН-оксидазы под влиянием амиодарона на фоне ризобияльной инокуляции, возможно, связано с избыточным поступлением  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоль, вызванного активирующим действием амиодарона на  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы.

Неселективный блокатор  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов хлорид лантана, как и амиодарон, снимает стимулирующее влияние клубеньковых бактерий на активность фермента, что проявилось в снижении активности фермента в 2,9 раза. Однако в отличие от амиодарона снижение активности фермента в этом варианте, вероятно, связано с недостатком  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме для активации фермента. В варианте опыта с влиянием только одного хлорида лантана наблюдалось снижение активности НАДФН-оксидазы на 36 % по сравнению с контролем (без инокуляции). Это, по-видимому, можно объяснить недостаточным количеством в цитоплазме ионов кальция вследствие блокирования  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов хлоридом лантана. Эти данные согласуются с представлением о том, что кальций играет двойную роль в клетке [Cerella et al., 2010] и в зависимости от концентрации может способствовать формированию бобово-ризобияльного симбиоза или подавлять этот процесс. Какой механизм влияния бобово-ризобияльного симбиоза на функции кальция и каким образом  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнал реализуется при симбиотическом взаимодействии, предстоит выяснить.

#### Литература

Бузун Г.А., Джемухадзе К.М., Милешко Л.Ф. // Физиология растений, 1982.- Т. 29. -№ 1. - С.198-200.

Глянько А.К., Ищенко А.А. // Прикл. биохимия и микробиология, 2010. - Т. 46. - № 5. - С. 509-518.

- Глянько А.К., Васильева Г.Г., Ищенко А.А. и др. // Прикл. биохимия и микробиология, 2010. - Т. 46. - № 4. - С. 479-485.
- Cerella C., Diederich L., Ghibelli L. // Int. J. Cell Biol., 2010. - V. 2010: 546163, 15 p.
- Cardenas L., Martinez A., Sanchez F. et al. // Plant J., - 2008. -V. 56. - № 5. - P. 802-813.
- Courchesne W.E., Ozturk S. // Mol. Microbiol., 2003. - V. 47. - № 1. - P. 223-234.
- Foreman J., Demidchik V., Bothwell J.H. et al. // Nature, 2003. -V. 422. - № 6930. - P. 442-446.
- Hayashi T., Banda M., Shimoda Y. et al. // Plant J., 2010. - V. 63. - № 1. - P. 141-154.
- Huetter J.E., Stack E., Wilding T.J. // Neuropharm., 1998. - V. 37. - № 10-11. - P. 1239-1247.
- Kobayashi M., Ohura I., Kawakita K. et al. // Plant Cell. - 2007. - V. 19. - № 3. - P. 1065-1080.
- Marino D., Dunand C., Puppo A. et al. // Trends Plant Sci., 2012. - V. 17. - № 1. - P. 9-15.
- Oldroyd C.E.D., Downie J.A. // Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2004. - V. 5.- № 7. - P. 566-576.
- Shaw S.L., Long S.R. // Plant Physiol., - 2003. -V. 131. - № 3.- P. 976-984.
- Sagi M., Fluhr R. // Plant Physiol., 2006. - V. 141. - № 2.- P. 336-340.
- Wong H.L., Pinontoan R., Hayashi K. et al. // Plant Cell, 2007. - V. 19. - № 12. - C. 4022-4034.
- Yano K., Yoshida S., Muller J. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2008. - V. 105. - № 51. - C. 20540-20545.

## **ВЛИЯНИЕ ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК И ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ СИСТЕМЫ, ГЕНЕРИРУЮЩИЕ АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА**

Ю.В. Карпец, Ю.Е. Колупаев, А.А. Луговая, Т.О. Ястреб

Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, Украина,  
Харьков, plant\_biology@mail.ru

В настоящее время жасмоновая кислота (ЖАК) рассматривается как фитогормон, участвующий в ответе растений на действие неблагоприятных факторов различной природы [Васюкова, Озерецковская, 2009]. Полагают, что ЖАК принадлежит ключевая роль в индуцировании системной устойчивости растений к биотическим стрессорам, связанной с активацией экспрессии широкого ряда жасмонат-чувствительных генов, в т.ч. генов ингибиторов протеаз и гена фенилаланинаммонийлиазы [Wasternack, 2007; Pauwels et al., 2009]. Также в последние годы появился довольно большой массив данных, свидетельствующих об участии эндогенной и экзогенной ЖАК в регуляции устойчивости растений к абиотическим стрессорам [Pauwels et al., 2009; Шакирова и др., 2010; Liu et al., 2012].

Участники трансдукции сигнала ЖАК в генетический аппарат клетки выяснены не полностью. Одним из ключевых компонентов жасмонатного сигналинга считается белок COI1 (coronative insensitive1), который необходим для удаления белков-репрессоров транскрипт-факторов генов сигналинга ЖАК [Kazan, Manners, 2008]. В то же время, имеются сведения, указывающие на роль активных форм кислорода (АФК) в жасмонатном сигналинге [Ozawa et al., 2009]. При этом, однако, роль АФК в процессах индуцирования устойчивости растений к абиотическим стрессорам при действии экзо-

генной ЖАК остается почти не исследованной. Не выяснены и ферментативные системы, задействованные в генерации АФК, индуцируемой ЖАК. Имеются косвенные указания на участие как НАДФН-оксидазы, так и пероксидазы в подобных процессах [Hung et al., 2006].

Целью настоящей работы явилось изучение влияния ЖАК в сочетании с антиоксидантом, ингибиторами НАДФН-оксидазы и пероксидазы на генерацию АФК клетками колеоптилей пшеницы и их теплоустойчивость.

**Материалы и методы.** В качестве объекта исследования использовали отрезки колеоптилей пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Элегия, которые отделяли от 4-суточных этиолированных проростков и инкубировали на простерилизованном 2% растворе сахарозы с добавлением пенициллина (Na-соль, 100000 ед.) (контроль). В среду соответствующих вариантов добавляли ЖАК в конечной концентрации 1 мкМ. В отдельных сериях экспериментов колеоптили обрабатывали антиоксидантом ионолом (бутилгидрокситолуол, 5 мкМ), ингибитором НАДФН-оксидазы имидазолом (1 мкМ), ингибитором пероксидазы салицилгидроксамовой кислотой (СГК, 500 мкМ) либо комбинацией эффекторов с ЖАК.

После 24 ч инкубации колеоптилей на растворах исследуемых соединений часть отрезков каждого варианта подвергали потенциально летальному прогреву в водяном ультратермостате в стерильной дистиллированной воде при температуре  $43,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$  в течение 10 мин. Затем колеоптили помещали в чашки Петри с простерилизованной 2% сахарозой с добавлением пенициллина и через 2 сут оценивали их выживание.

Генерацию супероксидных анион-радикалов интактными колеоптилями определяли по восстановлению нитросинего тетразолия (НСТ) [Карпец и др., 2011], содержание пероксида водорода – ферроцианидным методом [Sagisaka, 1976]. Активность супероксиддимутазы (СОД) определяли, используя метод, в основе которого способность фермента конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные анионы, образующиеся вследствие аэробного взаимодействия НАДН и феназинметасульфата [Чевари и др., 1985].

**Результаты и обсуждение.** Обработка колеоптилей ЖАК существенно повышала их выживание после повреждающего прогрева (таблица). Генерация  $\text{O}_2^{\cdot-}$  колеоптилями контрольного варианта в течение 24 ч наблюдений достоверно не изменялась. Под влиянием экзогенной ЖАК уже через 15 мин отмечалось усиление образования супероксидных анион-радикалов колеоптилями пшеницы более чем на 30%, в течение первого часа обработки этот показатель оставался стабильно повышенным, через 2-5 ч наблюдалось некоторое уменьшение генерации  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , а через 24 ч инкубации на растворе ЖАК генерация супероксидного анион-радикала заметно уменьшалась и становилась ниже, чем в контрольном варианте.

Содержание пероксида водорода в колеоптилях пшеницы контрольного варианта за время эксперимента существенно не изменялось. Обработка ЖАК вызывала быстрое транзиторное повышение содержания пероксида водорода в колеоптилях пшеницы в течение первых 15-30 мин. Через 2-5 ч содержание  $\text{H}_2\text{O}_2$  в колеоптилях, обработанных ЖАК, было достоверно ниже, чем в контрольных, а к 24 ч наблюдений это различие почти нивелировалось.

Причинами увеличения содержания АФК в растительных тканях под влиянием ЖАК может быть как повышение активности АФК-генерирующих ферментов (например, НАДФН-оксидазы), так и изменения активности антиоксидантных ферментов. В наших экспериментах под влиянием ЖАК в течение первого часа наблюдалось небольшое, но достоверное повышение активности СОД, на более поздних стадиях эксперимента различия по активности фермента в контрольном и опытном вариантах уменьшались. Усиление под влиянием ЖАК генерации супероксидного анион-радикала

колеоптилями пшеницы на фоне повышения активности СОД свидетельствует об активации ферментативных систем, генерирующих  $O_2^{\cdot-}$ . Таковыми могут быть НАДФН-оксидаза и внеклеточные формы пероксидазы. Ингибитор НАДФН-оксидазы имидазол и ингибитор пероксидазы СГК почти полностью устраняли эффект усиления генерации супероксидного анион-радикала колеоптилями, вызываемый ЖАК, при этом в используемых концентрациях они сами по себе существенно не влияли на этот показатель (таблица).

**Таблица**

**Генерация супероксидного анион-радикала колеоптилями пшеницы во время обработки эффекторами и их выживание после повреждающего нагрева (43°C, 10 мин)**

Вариант эксперимента	Генерация супероксидного анион-радикала, % к исходной величине в контроле	Выживание, %
Контроль	100,0 ± 2,6	45,8 ± 2,9
ЖАК, 1 мкМ	132,1 ± 4,9	67,3 ± 3,1
Ионол, 5 мкМ	101,5 ± 3,8	47,7 ± 3,5
ЖАК, 1 мкМ + ионол, 5 мкМ	105,7 ± 4,1	55,2 ± 4,1
Имидазол, 1 мкМ	96,3 ± 4,6	43,0 ± 3,3
ЖАК, 1 мкМ + имидазол, 1 мкМ	108,0 ± 4,8	48,9 ± 3,2
СГК, 500 мкМ	97,3 ± 3,3	53,4 ± 2,8
ЖАК, 1 мкМ + СГК, 500 мкМ	102,6 ± 3,9	54,3 ± 4,0

Если допустить, что транзиторное усиление генерации АФК, вызываемое ЖАК, является элементом трансдукции ее сигнала в геном, необходимым для активации защитных реакций клеток, то подавление этого процесса различными эффекторами должно снимать положительное влияние ЖАК на устойчивость к стрессорам. Обработка колеоптилей ионолом, нейтрализующим радикальные АФК, и ингибиторами ферментов, генерирующих АФК, не оказывала значительного влияния на теплоустойчивость колеоптилей пшеницы (таблица). Однако антиоксидант ионол, ингибитор НАДФН-оксидазы (имидазол) и ингибитор пероксидазы (СГК) снижали положительное влияние ЖАК на выживание колеоптилей после действия гипертермии.

Таким образом, можно полагать, что посредниками в индуцировании теплоустойчивости колеоптилей под влиянием экзогенной ЖАК являются АФК, генерируемые с участием, по крайней мере, двух ферментов – НАДФН-оксидазы и внеклеточной пероксидазы. При этом превращению супероксидного анион-радикала в пероксид водорода (стабильную АФК, выполняющую сигнальные функции) способствует вызываемое ЖАК повышение активности СОД.

*Работа выполнена с использованием средств гранта Президента Украины для поддержки научных исследований молодых ученых на 2012 год GP/F44/126.*

#### Литература

Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л. Жасмонат-зависимая защитная сигнализация в тканях растений // Физиология растений. – 2009. – Т. 56. – С. 643-653.

Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. Влияние нитропрусида натрия на теплоустойчивость колеоптилей пшеницы: связь эффектов с образованием и обезврежива-

нием активных форм кислорода // Физиология растений. – 2011. – Т. 58. – С. 883–890.

Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.

Шакирова Ф.М., Сахабутдинова А.Р., Ишдавлетова Р.С., Ласточкина О.В. Влияние предобработки метилжасмонатом на устойчивость проростков пшеницы к солевому стрессу // Агрехимия. – 2010. – № 7. – С. 26–32.

Hung K.T., Hsu Y.T., Kao C.H. Hydrogen Peroxide is Involved in Methyl Jasmonate-Induced Senescence of Rice Leaves // *Physiol. Plant.* – 2006. – V. 127. – P. 293–303.

Kazan K., Manners J.M. Jasmonate Signaling: Toward an Integrated View // *Plant Physiol.* – 2008. – V. 146. – P. 1459–1468.

Liu X., Chi H., Yue M., Zhang X., Li W., Jia E. The Regulation of Exogenous Jasmonic Acid on UV-B Stress Tolerance in Wheat // *Plant Growth Regul.* – 2012. V. – 31. P. – 436–447.

Ozawa R., Berteaux C.M., Foti M., Narayana R., Arimura G.-I., Muroi A. Exogenous Polyamines Elicit Herbivore-Induced Volatiles in Lima Bean Leaves: Involvement of Calcium, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and Jasmonic Acid // *Plant Cell Physiol.* – 2009. – V. 50. – P. 2183–2199.

Pauwels L., Inze D., Goossens A. Jasmonate-Inducible Gene: What Does it Mean? // *Trends Plant Sci.* – 2009. – 14. – P. 87–91.

Sagisaka S. The Occurrence of Peroxide in a Perennial Plant *Populus gelrica* // *Plant Physiol.* – 1976. – V. 57. – P. 308–309.

Wasternack C. Jasmonates: an Update on Biosynthesis, Signal Transduction and Action in Plant Stress Response, Growth and Development // *Ann. Bot.* – 2007. – V. 100. – P. 681–697.

## **РОЛЬ ОКСИДОРЕДУКТАЗ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ В ФОРМИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ К ВОЗБУДИТЕЛЮ СЕПТОРИОЗА *SEPTORIA NODORUM* BERK.**

Р.И. Касимова, Е.А. Заикина, Г.Ф. Бурханова, А.Р. Ахатова, Л.Г. Яруллина

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, kasimova007@gmail.com

Важным подходом к изучению механизмов, обеспечивающих устойчивость растений к патогенам, может служить сравнение физиологических показателей у разных сортов пшеницы. Для того чтобы решить эти задачи, имеющие как теоретическое, так и практическое значение, мы провели сравнительное изучение ряда показателей у растений пяти районированных сортов пшеницы, которые по предварительным данным различались по устойчивости к биотическим и абиотическим факторам.

Устойчивость растений оценивали по степени проявления поражения листьев при их инфицировании возбудителем септориоза. В качестве показателей, имеющих отношение к устойчивости, мы оценивали активность анионной пероксидазы и оксалатоксидазы и уровень экспрессии кодирующих их генов. Роль оксалатоксидазы в защите от грибных патогенов определяется тем, что при ее участии разрушаются продуцируемые грибами оксалаты, являющиеся агентами, направленными против защитных реакций растений [Dumas et al., 1995]. Пероксидаза - один из важных ферментов «двойного назначения», вовлеченный как в систему генерации, так и утилизации АФК [Андреева, 1988]. Также известно, что пероксидаза участвует в укреплении клеточной стенки растений путем полимеризации фенольных соединений с образованием лигнина и суберина.

В качестве объекта исследования были использованы растения пшеницы мягкой *Triticum aestivum* L. районированных сортов с различной устойчивостью: Башкирская 26, Омская 35, Омская 36, Казахстанская 10 и Симбирка. Опыты проводили на отрезках листьев изучаемых сортов пшеницы. Отрезки листьев инокулировали суспензией пикноспор *S. nodorum* Berk. ( $10^6$  спор/мл), которые были выделены из местной популяции гриба. Интенсивность развития симптомов септориоза оценивали на 5 и 6 сутки после инфицирования.

РНК из растений выделяли фенольно-детергентным методом. Для получения кДНК на основе мРНК изучаемых образцов проводили реакцию обратной транскрипции с использованием M-MuLV обратной транскриптазы согласно протоколу фирмы-поставщика. Полимеразно-цепную реакцию (ОТ-ПЦР) проводили в амплификаторе типа ТП4-ПЦР-01-«Терцик». После амплификации фрагменты ДНК фракционировали методом электрофореза в 1-2% агарозном геле или 7% ПААГ в электрофоретической камере S2 («Хеликон», Россия). В качестве положительного контроля использовали ПЦР гена, кодирующего конститутивно экспрессирующийся тубулин. С помощью программы «Primer Select» (DNASar) были подобраны высокоспецифичные праймеры к генам оксалактоксидазы (AJ556991.1) и пероксидазы (Peroxibase TC 151917), фланкирующие фрагмент ДНК размером 410 и 157 п.н. соответственно. Экспериментальным путем были подобраны условия проведения ПЦР.

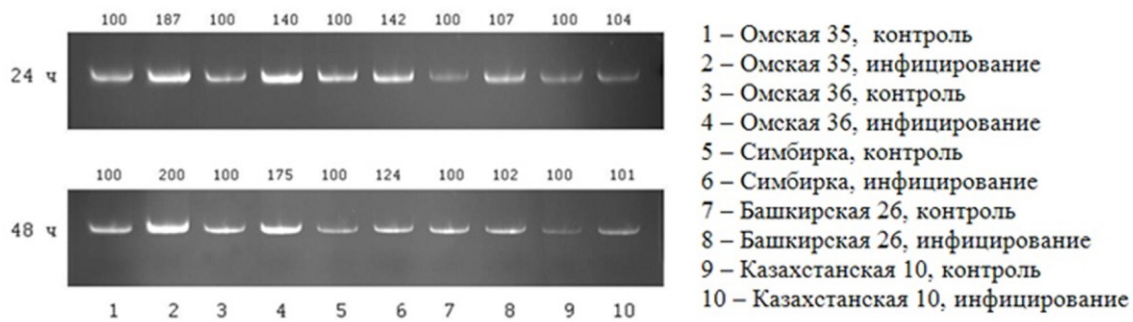
Наблюдение за ростом гриба позволило выявить, что в наименьшей степени симптомы проявлялись у растений сортов Омская 35. Развитие септориоза на отрезках листьев других сортов сопровождалось обесцвечиванием листьев с их последующим побурением. Таким образом, наибольшую устойчивость к инфицированию возбудителем септориоза проявляли растения пшеницы сорта Омская 35, наименьшую – сорта Казахстанская 10. Сорта пшеницы Омская 36, Симбирка и Башкирская 26 занимали по степени инфицируемости *S. nodorum* промежуточное положение.

Исследования показали, что в ответ на инокуляцию возбудителем септориоза происходило повышение активности оксалактоксидазы и пероксидазы в зависимости от устойчивости сорта. Наибольшая активность ферментов на протяжении 48 часов обнаружена в инфицированных листьях растений сорта Омская 35. Самый низкий уровень активности был обнаружен в листьях растений сорта Казахстанская 10, который практически не отличался от контрольного показателя.

Для выявления механизма повышения активности ферментов был изучен уровень экспрессии кодирующих их генов. Для этого были подобраны праймеры к специфичным участкам генов оксалактоксидазы и анионной пероксидазы. Данные амплификаты были просеквенированы и имели на 98% схожесть с последовательностями из генбанка.

Исследования показали, что в растениях сорта Омская 35 практически на 87% повышался уровень экспрессии гена анионной пероксидазы, что, вероятно, и обуславливает повышение активности фермента (рис. 1). В растениях сортов Казахстанская 10 был обнаружен самый низкий уровень экспрессии гена пероксидазы. Сходная тенденция обнаружена и при анализе экспрессии гена оксалактоксидазы в инфицированных тканях.

Таким образом, выявлена связь устойчивости пшеницы к возбудителю септориоза с активностью оксалактоксидазы и пероксидазы в растительных тканях. Активация этих ферментов в инфицированных растениях пшеницы обеспечивается повышением уровня экспрессии кодирующих их генов. Уровень экспрессии генов оксалактоксидазы и анионной пероксидазы и активности кодируемых ими белков можно использовать в качестве критерия для отбора устойчивых растений в лабораторных условиях.



**Рис. 1. Экспрессия гена анионной пероксидазы в листьях пшеницы разных сортов через 24 и 48 часов после инфицирования (% от контроля).**

*Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы проект ГК № 16.740.11.0061, РФФИ\_поволжье\_а № 11-04-97037.*

#### Литература

- Андреева В.А. Фермент пероксидаза: Участие в защитном механизме растений (от вирусной инфекции). М.: Наука, 1988. 129 с.
- Dumas B., Freyssinet G., Pallet K. Tissue-specific expression of germin-like oxalate oxidase development and fungal infection of barley seedlings // Plant Physiol. 1995. V. 107. P.1091-1096.

## ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ НОВЫХ МУТАНТНЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ НА СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ

С.С. Кенжебаева, С.Д. Атабаева, Г. Доктырбай, Р.А. Алыбаева, Ж. Нармуратова

Казахский Национальный Университет им. аль-Фараби, Алматы, kenzhebaevas@mail.ru

Засоление является одним из основных абиотических стрессоров, оказывающее негативное влияние на производство сельскохозяйственных культур. Согласно современным оценкам, приблизительно 5 % земель мировых сельскохозяйственных угодий и почти 20% орошаемых земель в той или иной степени засолены, и по прогнозам, увеличится в ближайшие десятилетия (<http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>). Засоление почв приводит к значительному снижению урожайности зерна пшеницы, а также потерей его качества. Повышение солеустойчивости культур необходимо для стабильного сельскохозяйственного производства [Munns et al., 2006]. В орошаемой земледелии повышение солеустойчивости культур позволит снизить требования к выщелачиванию, уменьшить затраты на орошаемые схемы и необходимости в пресной воде [Pitman, Lauchli 2002]. В засушливых районах производства, повышение солеустойчивости позволит увеличить продуктивность на засоленных почвах. В районах с малым количеством осадков, где соль накапливается в грунтовых водах и остается в почвообразующих породах, повышение солеустойчивости позволит растениям больше извлекать воды.

Эффективность селекционного улучшения культуры достигается при наличии широкого генетического разнообразия исходного материала. Генетические ресурсы во всем мире рассматриваются как основной источник улучшения сельскохозяйственных культур на ближайшие десятилетия. Применение различных мутагенов для расширения генетической изменчивости культур является реальным инструментом не только в селекции сельскохозяйственных культур, но в фундаментальных исследованиях по гено-

му растения, его структуре и функций. Многие мутанты с желательными признаками были выбраны во втором или третьем поколении после мутагенного воздействия и впоследствии созданы как новые сорта в результате агрономической оценки в региональных и национальных исследованиях. Эти или другие мутанты с индуцируемыми мутациями в желаемых признаках были созданы новыми сортами, которые использовались в скрещивании в качестве источника конкретных аллелей генов, часто аллельных в спонтанном, но в нужном генотипе. Желаемая мутация в хорошей генетической основе является очень привлекательным компонентом в селекционных программах. Индуцированные мутации генов были использованы для улучшения многих сельскохозяйственных культур, включая пшеницу. Гамма-излучение эффективно использовалось, чтобы индуцировать скороспелость у солеустойчивого генотипа пшеницы KTDH 19, характеризующего поздним созреванием хлеба [Mahar et al, 2003]. Целью данной работы являлся физиологический скрининг новых  $M_3$  мутантных продуктивных линий яровой пшеницы, полученных с помощью гамма излучения, на солеустойчивость для идентификации новых солеустойчивых источников.

**Материалы и методы.** На основании исследований по радиационной чувствительности, доза 100 Гр был выбрана для облучения яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) для создания  $M_3$  мутантных линий. Для получения мутантных линии ( $M_3$  поколение), использованных для идентификации перспективных, продуктивных линий по элементам структуры урожая, первоначально сухие семена сорта пшеницы казахстанской селекции Женис были обработаны дозой 100  $\gamma$  гамма-излучения на гамма-ионизирующей установке (РХМ- $\gamma$  20) (Казахский ядерный центр п. Алатау). Растения выращивались на экспериментальных полях Казахского научно-исследовательского института растениеводства и земледелия (п. Алмалыбак) для получения  $M_1$ ,  $M_2$  и  $M_3$  мутантных популяций. Отбор отдельных растений был сделан в  $M_3$  поколении с учетом следующих элементов продуктивности: число и массу зерен в главном колосе, общая продуктивность растения по сравнению с исходным сортом. Продуктивные генотипы были отобраны на основании этих элементов продуктивности. Эксперименты по скринингу для идентификации солеустойчивых линий были выполнены на 14-суточных проростках  $M_3$  продуктивных линий яровой пшеницы на генетической основе сорта Женис, полученные в результате воздействия дозой 100  $\gamma$  гамма: №13(1), №13(2), №13(3), №13(4), №13(5), №4(3), №4(4), №5(1), №5(2), №5(3). Растения выращивали в 4-х литровых сосудах на питательной смеси, содержащей 0,1 мМ  $CaCl_2$  (0 М  $NaCl$ , контроль). Для изучения влияние засоления на ростовые параметры корней и надземных органов и накопления их сухой биомассы были взяты 0,6 %  $NaCl$  (0,064 М) и 1,2%  $NaCl$  (0,128 М). Растения выращивали в факторостатных условиях при 22<sup>0</sup> С днем и 18<sup>0</sup> С ночью, с 14-часовым фотопериодом, интенсивность освещения - 5 тыс. люкс, влажность - 65%. Измерение ростовых показателей надземных частей и корней проводилось по общепринятым методам. Индекс толерантности вычисляли для 14-дневных проростков по формуле:  $I_t = I_{NaCl} / I_c$ , где  $I_{me}$  – сухая масса корней на растворе с концентрацией  $NaCl$ ,  $I_c$ - сухая масса корней на растворе без  $NaCl$  (контроль).

### Результаты.

В таблице 1 представлены результаты по элементам структуры урожая,  $M_3$  мутантной популяции яровой на генетической основе сорта Женис дозой 200  $\gamma$ .

Результаты анализа скрининга перспективной  $M_3$  выделенной мутантной гермоплазмы яровой пшеницы на генетической основе сорта Женис доза 100  $\gamma$  по индексу солеустойчивости по длине корней и надземных органов и накоплению их биомассы в зависимости от концентрации соли показаны в таблице 2. Увеличение концентрации  $NaCl$  подавляло рост надземных органов и корней и накопления их биомассы всех генотипов пшеницы (табл. 2.). Ростовые ответные реакции на действии стрессора разли-



чались у мутантных линии. Снижение роста корней было более существенным по

Таблица 1

Элементы структуры урожая, М<sub>3</sub> мутантной популяции яровой  
на генетической основе сорта Женис дозой 200 γ 100 Гр

М <sub>3</sub> линия, доза 100 γ.	Количество зерен в главном колосе	Масса зерен главного колоса, г	Зерновая продуктивность одного растений, г
Сорт Женис	31,1±11,2	1,20±0,51	4,0±1,02
4(3)	45	1,56	6,80
4(4)	49	2,06	5,97
5(1)	63	1,95	9,09
5(2)	38	1,55	4,38
5(3)	48	1,84	5,60
13(1)	58	2,24	9,29
13(2)	46	1,68	8,72
13(3)	47	1,68	5,36
13(4)	60	2,77	6,9
13(5)	26	0,76	7,01

сравнению с таковым надземных органов. Максимальное подавление роста корней и побегов при 126 мм NaCl отмечалось у М<sub>3</sub> линии № 4 (3) с индексом солеустойчивости 6,6 и 20,5% (табл. 2). Индекс солеустойчивости по этим показателям у сорта Женис составил 11,0 и 32,8%, соответственно. Среди М<sub>3</sub> линий максимальное значение индекса солеустойчивости по длине корней было у двух М<sub>3</sub> линий, № 13 (3) (20,8%) и № 4 (4) (18,9%). Различия по длине надземных органов между родительским сортом и М<sub>3</sub> линиями были не столь значительны и варьировали от 20,7 до 34,8%. М<sub>3</sub> линия № 4 (4), характеризующаяся высоким индексом солеустойчивости по длине корней, выявляла реакцию по росту надземных органов при 126 мм NaCl (32,6%). Стрессориндуцируемое понижение биомассы было также более значительно в корнях, чем надземных органов (табл. 2). Засоление (126 mM NaCl) ингибировало снижение биомассы от 26,7 до 59,4% в корнях и от 37,6 до 53,5% в надземных органов у М<sub>3</sub> линий. Индекс солеустойчивости корней и надземных органов по накоплению биомассы у сорта Женис сорта составил 37,5 и 42,1%, соответственно.

Таким образом, результаты по скринингу на солеустойчивость М<sub>3</sub> линий, созданных с использованием гамма-излучения 100 γ (табл. 1) показывают, что М<sub>3</sub> линии № 4(4) и № 13(4) являются наиболее устойчивыми по ответной реакции корней в накоплении биомассы, и М<sub>3</sub> линии № 5 (1) и № 13 (4) по реакции надземных органов. М<sub>3</sub> линии и родительский сорт Женис на действие засоления могут быть расположены следующий ряд, ответная реакция корней: № 4 (4)> № 13 (4)> № 5 (2)> № 13 (3)> № 13 (5)> Женис; ответная реакция корней: № 5 (1)> № 13 (4)> № 13 (5)> № 4 (4)> Женис. Физиологический скрининг солеустойчивых М<sub>3</sub> линий и родительского сорта показал, что, созданные М<sub>3</sub> линии № 4(4), № 13(4) и № 13(5) более продуктивны и имеют высокий индекс солеустойчивости по накоплению биомассы корней и надземных органов по сравнению с сортом Женис и другими М<sub>3</sub> линиями. М<sub>3</sub> линия № 4(4) также характеризуется более высоким ростовым показателем по длине корней при 126 мм NaCl.

Таблица 2

**Влияние концентраций NaCl на индекс солеустойчивости по длине корней и надземных органов, накопление сухой биомассы корней в 14 дневных проростков у МЗ мутантных линий Женис, полученных при дозе обработки радиацией 100 грей.**

Генотип	63 mM NaCl/контроль				126 mM NaCl/ контроль			
	длина корня	накоп- ление био- массы корней	длина надзем- ных корней	накоп- ление био- массы надзем- ных ор- га-нов	длина корня	накоп- ление био- массы корней	длина надзем- ных ор- ганов	накоп- ление био- массы надзем- ных ор- га-нов
Сорт Женис	46,6	85,0	93,5	80,3	11,03	37,5	32,8	42,1
4(3)	47,8	77,9	95,2	97,0	6,6	26,7	20,5	44,6
4(4)	64,3	87,5	93,8	74,6	18,9	59,4	32,6	46,4
5(1)	50,3	80,9	98,1	98,5	13,6	41,5	34,8	57,2
5(3)	48,6	95,7	78,2	94,5	11,4	50,0	29,5	37,6
13(1)	63,6	91,1	84,4	71,1	16,3	16,3	34,2	42,8
13(2)	51,9	80,5	86,0	85,2	12,5	12,5	21,2	44,8
13(3)	50,2	61,9	63,9	64,3	20,8	20,8	20,7	39,6
13(4)	57,9	67,0	85,4	96,5	16,6	16,6	34,4	53,5
13(5)	79,3	98,2	87,1	83,2	13,9	13,9	34,2	46,8

## Литература

Mahar AR, Hollington PA, Virk DS, Witcombe JR. Selection for early heading and salt-tolerance in bread wheat. *Cereal Research Comm*, 2003, 31: 81–88

Munns R, James R A, LaE uchli A. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Botany*, 2006, Vol. 57, No. 5: 1025–1043.

Pitman M G, La uchli A. Global impact of salinity and agricultural ecosystems. In: La uchli A, Lu ttge U, eds. *Salinity: environment – plants – molecules*. Dordrecht: Kluwer, 2002, .pp 3–20.

### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕАКЦИИ ЯЧМЕНЯ И КУКУРУЗЫ НА КАДМИЙ: СХОДСТВА И ОТЛИЧИЯ

А.А. Клаус<sup>1</sup>, Н.Л. Пшибытко<sup>2</sup>, Е.А. Лысенко<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, Москва, klaus.alexander@rambler.ru

<sup>2</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, pshybytko@rambler.ru

<sup>3</sup>Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, Москва, genlysenko@mail.ru

Кадмий является одним из наиболее токсичных тяжёлых металлов, которым в результате промышленной деятельности (преимущественно горнодобывающей) загрязняются почвы и воды. В последние годы выполнено большое число работ по воздействию кадмия на организмы растений многих видов. В нашем исследовании представлены данные по воздействию этого тяжёлого металла на организмы двух разных эволюционных ветвей семейства злаков: кукурузы и ячменя. Оба этих растения известны

как растения-исключатели, ограничивающие поступление ионов металла в ткани побега из корней.

Ячмень (сорт “Луч”) и кукурузу (сорт “Лучистая”) единообразно выращивали на водной культуре и подвергали воздействию кадмия с единственным отличием: проростки выращивали при оптимальной температуре - 21° для ячменя и 25° для кукурузы. Кадмий (80 мкМ Cd<sup>2+</sup>) вносили 3-дневным проросткам на срок 6 суток. На этой стадии развития ячмень проявил себя как более чувствительное растение. По многим параметрам рост и развитие проростков ячменя подавлялись сильнее, чем у проростков кукурузы. При этом в тканях побега ячмень накапливал меньшее количество кадмия, чем кукуруза, а в корнях накопление кадмия практически не отличалось.

Дальнейшие исследования показали, что в хлоропластах ячменя, но не кукурузы кадмий снижает нефотосинтетическое тушение флуоресценции (быстрый компонент NPQ). Причем снижение это имеет четкую концентрационную зависимость. Известно, что растения накапливают кадмий преимущественно в метаболически не активных компартментах, таких как клеточная стенка и вакуоль. Мы предположили, что большая чувствительность ячменя к кадмию может быть следствием его большей аккумуляции в таком метаболически активном компартменте как хлоропласты. Мы определяли содержание кадмия в интактных хлоропластах, изолированных при помощи градиента перкола. Оказалось, что в хлоропластах кукурузы содержится втрое меньшее количество кадмия на единицу хлорофилла, чем в ячмене. Таким образом, несмотря на большее накопления кадмия в тканях листа, за счёт меньшего проникновения кадмия в хлоропласты кукуруза проявляет меньшую чувствительность к кадмию, чем ячмень.

Ранее нами было показано, что в данной системе выращивания растений концентрация 250 мкМ кадмия является летальной. К 34у дню развития погибает 42 % растений кукурузы [Клаус, 2013]. При сравнении с ячменём оказалось, что этот вид более устойчив к длительному воздействию летальной концентрации кадмия: к 34у дню погибало только 2,4% растений. Мы наблюдали определенное отличие повреждающего эффекта кадмия на рост растений двух этих видов. У кукурузы наблюдалось относительно равномерное торможение и увядание листьев всех ярусов, тогда как у ячменя происходила быстрая гибель нижних (старых) листьев, а молодые листья почти не проявляли признаков нарушения роста. Объяснением этого может быть различия этих видов по распределению кадмия в побеге. И у кукурузы [Клаус, 2013], и у ячменя кадмий в большей степени накапливался в старых листьях и в меньшей - в молодых. Однако разница в накоплении кадмия между более старыми и более молодыми листьями у кукурузы значительно меньше, чем у ячменя. Видимо, этим можно объяснить разницу в устойчивости ювенильных растений двух этих видов к воздействию кадмия.

Таким образом, у двух видов злаков мы наблюдаем две разные стратегии адаптации к поступлению кадмия в побег. У кукурузы более выражена стратегия клеточного уровня (ограничение поступления кадмия в хлоропласты), а у ячменя – организменного (ограничение поступления кадмия в молодые листья).

*Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 13-04-00068 и № 13-04-00154.*

#### Литература

Клаус А.А., Лысенко Е.А., Холодова В.П. Рост растений кукурузы и накопление фотосинтетических пигментов при кратко- и долгосрочном воздействии кадмия // Физиология растений, 2013. – т. 60. – №2. – С. 246-256.

## **ВЛИЯНИЕ СУЛЬФАТА НЕОДИМА НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ГОРОХА, ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И НАКОПЛЕНИЕ В КОРНЯХ И НАДЗЕМНОЙ ФИТОМАССЕ**

Н.М. Кожевникова

БИП СО РАН, Улан-Удэ, nicas@binm.bscnet.ru

Микроудобрения оказывают существенное влияние на урожайность и качественный состав сельскохозяйственных культур. В последнее время, наряду с традиционными микроэлементами, перспективным является использование редкоземельных элементов (РЗЭ), в частности, лантана, неодима, самария. Для получения эффективного микроудобрения с пролонгированным действием, оказывающего незначительную экологическую нагрузку на окружающую среду, целесообразным оказалось применение сорбционной технологии, которая в качестве носителя микроэлементов предполагает использование цеолитов [Абашеева и др., 2003; Кожевникова и др., 2005].

Основным источником поступления редкоземельных элементов (РЗЭ) в почву являются почвообразующие породы [Абашеева и др., 2003]. Содержание РЗЭ зависит от генезиса почв, степени выветренности, содержания гумуса, глинистых минералов и других факторов. Распространение РЗЭ в природных системах, их миграция изучены недостаточно [Абашеева и др., 2003]. Аккумуляцию и внутрипрофильное распределение РЗЭ в почвах связывают с элювиальными или элювиально-иллювиальными процессами [Кожевникова и др., 2005], высокой прочностью сорбции компонентами почв, что снижает подвижность РЗЭ и обуславливает их миграцию в составе коллоидов [Дробков, 1941].

Растения характеризуются низким уровнем аккумуляции РЗЭ, являясь эффективным барьером для их перемещения в экосистемах [Дробков, 1941; Кабата-Пендиас, Кабата-Пендиас, 1985]. Содержание РЗЭ в растениях варьирует от 0.0025 до 0.55 мг/кг сухого вещества с преобладанием лёгких редкоземельных элементов [Абашеева и др., 2003]. Изучение распределительной функции растений в отношении РЗЭ имеет важное значение для характеристики экологической устойчивости системы «почва-растение» и соблюдения санитарно-гигиенических требований к продовольственным и кормовым культурам.

Известно, что соединения РЗЭ обладают повышенной биологической активностью и используются в качестве микроудобрений, увеличивая урожай пшеницы, гороха, кукурузы, сахарной свеклы на 20-40%, прирост сухого вещества на 10-13%, содержание белкового азота, кальция, сахаров и аскорбиновой кислоты [Абашеева и др., 2003; Дробков, 1941; Кабата-Пендиас, Кабата-Пендиас, 1985].

При изучении эффективности микроудобрений важно установить не только влияние их на урожай, но и на поступление отдельных элементов в растения, определить пороговое содержание их в различных культурах.

В наших исследованиях [Абашеева и др., 2003; Кожевникова, 2005] показано влияние неодима на увеличение потенциальной нитрификационной способности каштановой почвы, характеризующейся неблагоприятными вводно-физическими свойствами, низким содержанием гумуса (1.4-2.5%) и общего азота (0.10-0.14%). Содержание нитратного азота возросло от 2 до 27 мг/кг почвы по мере роста продолжительности инкубирования до 45 суток. Неодим оказывает стимулирующее действие на продукционный процесс в системе почва-растение. Урожайность зеленой массы гороха повышалась на 20-45%, томатов – на 30-35%, сладкого перца – на 27-32%. Отмечено увеличение в зеленой массе гороха и овоща содержания сахаров, аскорбиновой кислоты и белкового азота. Применение неодимсодержащего микроудобрения способствует акти-

вазии микробиологической деятельности в каштановой почве, повышая численность микробоценоза (актиномицетов, грибов, дрожжей) и усиливая ферментативную активность почвы (каталазы, дегидрогеназы, протеазы, уреазы).

Цель настоящей работы – изучить распределение неодима в органах растений гороха в зависимости от концентрации в почвенной среде, определить коэффициент биологического поглощения неодима, а также устойчивость растений к высоким концентрациям неодима в почве.

В вегетационных опытах рассмотрены результаты влияния разных доз и способов внесения неодима на урожай гороха сорта «Неосыпающийся-1» и поступление его в органы растения. Опыты с горохом проводили на каштановой легкосуглинистой почве с содержанием гумуса 2.31%, хорошо обеспеченной подвижным фосфором и обменным калием. Валовое содержание неодима в почве составляло 19.6 мг/кг почвы.

В сосуды, вместимостью 6 кг почвы, высевали по 25 семян гороха, оставляя по 15 растений для уборки в фазе массового цветения. Повторность опыта четырехкратная.

Неодим вносили в почву на фоне NPK в форме сульфата (3 и 6 мг на 1 кг почвы в расчете на элемент) и в виде микроудобрения (МУ), полученного по сорбционной технологии насыщением природного морденитсодержащего туфа из 0.01% раствора сульфата неодима. В морденитовом туфе после насыщения содержание Nd составляло 3 мг/г цеолита, вносили в почву 1 и 2 г неодимсодержащего цеолита на 1 кг почвы.

В качестве фона, который служил контролем, в почву были внесены  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  и  $\text{KCl}$  из расчёта 150 мг действующего вещества на 1 кг почвы. Для получения МУ по сорбционной технологии использовали морденитсодержащий туф Мухор-Талинского перлит-цеолитового месторождения (Бурятия) следующего состава (массовая доля, %):  $\text{SiO}_2$  70,96%,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  11,97,  $\text{MgO}$  0,18,  $\text{CaO}$  0,92,  $\text{Na}_2\text{O}$  2,38,  $\text{K}_2\text{O}$  5,2. Отношение  $\text{Si}/\text{Al}=5,2$ . Содержание цеолита в породе составило 60-62%. Размеры зерен туфа 1-2 мм, отношение масс цеолита и раствора сульфата неодима соответствовало 1:10.

Неодим в почве определяли после разложения смесью кислот  $\text{HF}$ ,  $\text{HNO}_3$  и  $\text{HCl}$ , в растениях – после сухого озоления с последующим атомно-абсорбционным анализом на спектрофотометре AAS-2 фирмы SOLAAR. Данные урожайности культуры обработаны дисперсионным методом [Доспехов, 1985].

При использовании неодимсодержащих микроудобрений повышение урожайности зелёной массы гороха относительно фона наблюдалось только при совместном внесении их с минеральными удобрениями. Существенную роль играет доза микроэлемента, наибольшие показатели получены при внесении неодима в количестве 6 мг/кг почвы. Применение только сульфата неодима не имело заметного влияния и по эффективности действия сравнимо с морденитсодержащим туфом.

В химическом составе зелёной массы гороха во всех вариантах с Nd существенно возрастало количество общего азота в 1.12-1.17, белкового азота в 1.07-1.13 раза, калия в 1.03-1.19, фосфора в 1.08-1.47 раза, кальция в 1.09-1.13, магния в 1.32-2.13 раза, сырой золы в 1.04-1.12 раза.

Концентрация неодима в растениях гороха варьировала в пределах 0.34-0.48 мг/кг сухой массы, изменялась от способа внесения неодимсодержащих микроудобрений. В корнях гороха уровень Nd был значительно выше (0.78-1.76 мг/кг сухой массы), чем в вегетативной массе. По коэффициенту биологического поглощения вегетативной массой гороха (0.075-0.091) Nd характеризовался низким уровнем поглощения.

В варианте с внесением МУ с содержанием неодима 3 мг/кг почвы, концентрация неодима ниже концентрации неодима, внесенного в такой же дозе 3 мг/кг в виде сульфата -  $\text{Nd}_2(\text{SO}_4)_3$ , следовательно, неодим, сорбированный цеолитом, вероятно, вследствие медленного и постепенного выделения в почвенную среду из цеолита менее доступен корням, чем внесённый в форме соли. Наибольшая прибавка урожайности зе-

ленной массы гороха на 32% к фону получена при дозе Nd 6 мг/кг и меньшая - 23% при дозе 3 мг/кг. В химическом составе гороха отмечено заметное увеличение общего и белкового азота, калия, фосфора, кальция и магния в зелёной массе гороха при дозе лантана 6 мг/кг в форме МУ. Наиболее заметное влияние на рост зольных элементов оказывает внесение неодима в составе МУ. В других вариантах также наметилась тенденция увеличения количества азота и минеральных элементов в листьях по сравнению с фоновым. Можно предположить, что ионы неодима способствуют доступности растениям фосфора, или же неодим препятствует ретроградации вносимого с минеральными удобрениями фосфора. Повышение калия в растениях, вероятно, вызвано увеличением подвижности катионов калия минеральных удобрений под влиянием ионов неодима, причем наиболее выраженное действие характерно для неодима, сорбированного цеолитом. Аккумуляция калия в варианте с морденитовым туфом вызвана тем, что находящийся в цеолите или поглощенный им калий, становится доступнее для растений при наличии в почвенном растворе избыточного количества противоионов –  $H^+$  или  $NH_4^+$  [Абашеева и др., 2003; Кожевникова, 2005].

По величине коэффициентов биологического поглощения неодим характеризуется слабым уровнем захвата надземными органами гороха. При внесении неодима в почву в сорбированной цеолитом форме его содержание в растениях гороха возрастало: в корнях в 1.6-3.7 раза, в листьях и стеблях в 1.07-1.21 раза. Между концентрацией неодима в питательной среде и количеством его в растениях не отмечается прямая зависимость, что подтверждает барьерную роль корней на пути поступления неодима в надземные органы, корни стимулируют развитие надземной массы гороха лишь до определённого уровня неодима в корнях. Концентрирование элемента в корнях гороха выше 2.5 мг/кг сухой массы приводило к угнетению роста надземных органов растения.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 12-05-00020а).*

#### Литература

Абашеева Н.Е., Инешина Е.Г., Меркушева М.Г. Влияние лантансодержащего микроудобрения на биологическую активность каштановой почвы // *Агрохимия*. – 2003. - № 8. - С. 39-44.

Абашеева Н.Е., Кожевникова Н.М., Меркушева М.Г. и др. Влияние лантансодержащих микроудобрений на нитрификационную способность почвы, урожай и качество растений // *Агрохимия*. - год? № 10. – С. 44-48.

Кожевникова Н.М., Абашеева Н.Е., Гаркушева Н.М. Получение неодимсодержащих микроудобрений по сорбционной технологии // *Химия в интересах устойчивого развития*. - 2005. - Т.13.- № 1. - С. 65-69.

Дробков А.А. Влияние элементов редких земель – церия, лантана и самария на развитие гороха // *Докл. АН СССР*.- 1941.- Т. 32.- С. 668.

Кабата-Пендиас А., Кабата-Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях.- М.: Мир.- 1989. 439 с.

Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М: Агропромиздат. 1985. 351 с.

## СИНТЕЗ HSP70 ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ HSP90 В ПРОРОСТКАХ *ARABIDOPSIS THALIANA* (ДОКАЗАТЕЛЬСТВО АВТОРЕГУЛЯЦИИ СИНТЕЗА БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА)

Л.Е. Козеко

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев, kozeko@optima.com.ua

Реакция клетки на действие неблагоприятных факторов различного генезиса включает в себя индукцию синтеза белков теплового шока (heat shock protein, Hsp), которые принадлежат к пяти семействам – Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60 и sHsp. Инициация транскрипции генов *hsp* происходит при взаимодействии транскрипционных факторов - факторов теплового шока (heat shock factor, Hsf) - с регуляторными элементами в промотерной последовательности этих генов – элементами теплового шока [Pelham, 1982; Morimoto, 1998]. Функционально активной формой Hsf является тример. В отсутствии стресса клетки содержат пул Hsf в неактивной форме. Механизм подавления их активности интенсивно исследуется. В частности, на животных клетках было показано, что мономерная форма Hsf1 может связываться белками Hsp90 [Ali et al., 1998]. Позже появились доказательства того, что подобный механизм существует и в растительных клетках [Yamada et al., 2007]. Эффективным подходом в этих исследованиях является использование ингибиторов функционирования Hsp90, блокирующих АТФазный цикл шаперона [Prodromou et al., 1997]. Блокирование работы Hsp90 должно привести к высвобождению Hsf, их тримеризации и инициации генной экспрессии Hsp. Целью настоящего исследования была проверка гипотезы об авторегуляции экспрессии белков теплового шока белками Hsp90 у растений с использованием ингибитора Hsp90 гелданамицина (ГДА). О синтезе Hsp судили по синтезу Hsp70.

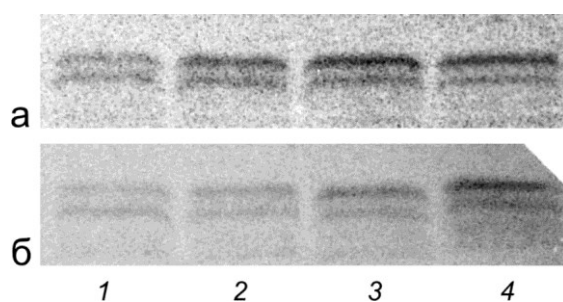
Работу проводили с *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh (Col). Проростки выращивали в стерильных условиях на среде (0,5 комплекса минеральных солей Мурасиге - Скуга, 1 % сахарозы, 0,8 % агара) при  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  и 16-часовом фотопериоде. ГДА (Sigma) применяли в концентрациях 1, 10 и 100 мкмоль/л. В контроле растительный материал инкубировали в стерильной дистиллированной воде при тех же условиях. В первом эксперименте 12-суточные проростки инкубировали в микропробирке с раствором ГДА в течение 6 ч в темноте при  $24^\circ\text{C}$  и после обработки использовали для анализа. В следующих экспериментах антибиотиком обрабатывали семена в течение 24 ч, после чего высаживали на среду. Анализировали 12-суточные проростки. Вестерн-блоттинг использовали для анализа Hsp70. Методика экстракции суммарных растворимых белков, их электрофоретического разделения в полиакриламидном геле, переноса на нитроцеллюлозную мембрану и иммунодетекции описаны нами ранее [Козеко, 2009]. Для иммунодетекции Hsp70 использовали моноклональные антитела (Sigma), вторичные антитела, связанные с биотином (Sigma), которые визуализировали с помощью экстравидин-пероксидазной системы. Контроль за выравниваемостью количества суммарного белка, наносимого на гель, проводили по белковым трекам, окрашенным Понсо С на мембране.

Вестерн-блот-анализ белков Hsp70 проростков *A. thaliana* выявил две иммунореактивные зоны, обозначенные на рисунках как Hsp70.1 и Hsp70.2. Предварительно было показано, что тепловой стресс вызывает активацию синтеза белков обеих зон, при этом изменения в уровне Hsp70.1 выражены в большей степени (данные не приводятся).

Шестичасовая обработка проростков ГДА при  $24^\circ\text{C}$  вызывала активацию синтеза Hsp70 (Рис. 1 а), причем Hsp70.1 – в большей мере, как это было показано при тепловом стрессе. Степень активации увеличивалась с повышением концентрации антибио-

тика. Таким образом, ингибитор Hsp90 вызывал в клетках проростков индукцию синтеза Hsp70 в отсутствие стресса, что подтверждает существование описанного выше гипотетического механизма регуляции генной экспрессии Hsp белками Hsp90.

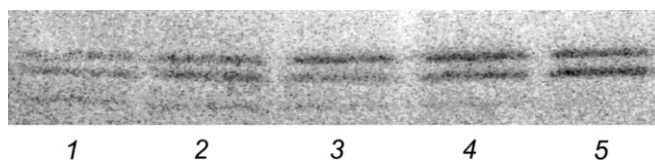
Известно, что ГДА быстро теряет свою активность на свету [Queitsch et al., 2002]. Для того, чтобы выяснить, сохраняется ли эффект ГДА длительное время, с антибиотиком инкубировали семена, а для анализа использовали 12-дневные проростки. Обработка семян ГДА во всех исследованных концентрациях не снижала их жизнеспособности и не влияла на состав суммарных растворимых белков проростков (данные не приведены). Вместе с тем уровень Hsp70 возрастал с повышением концентрации ГДА, в большей степени – зоны Hsp70.1 (Рис. 1 б). Это либо может быть результатом длительного сохранения активности молекул ГДА в клетках, либо может указывать на изменение конститутивного уровня Hsp70, вызванное действием антибиотика в период прорастания семени и начала роста проростка (если он под действием света быстро теряет свою активность в клетках).



**Рис. 1.** Иммуноблоты Hsp70 контрольных проростков (1) и проростков: а - инкубированных с ГДА; б – выращенных из семян, инкубированных с ГДА в концентрациях 1 мкмоль/л (2), 10 мкмоль/л (3) и 100 мкмоль/л (4).

Для того, чтобы проверить, влияет ли обработка семян ГДА на стрессовую реакцию клеток, проростки, выращенные из обработанных семян, подвергали действию высокой температуры (45°C, 1 ч). Уровень индукции синтеза Hsp70 обеих иммунореактивных зон при применении антибиотика в концентрациях 10 и 100 мкмоль/л оказался значительно выше, чем без антибиотика (Рис. 2).

Таким образом, полученные данные показывают, что ингибирование функциональной активности Hsp90 путем связывания с ГДА приводит к дозо-зависимой индукции синтеза Hsp70, что может быть аппроксимировано на Hsp всех пяти семейств. Это подтверждает существование гипотетического механизма регуляции активности Hsf с помощью Hsp90 и, в целом, механизма авторегуляции синтеза белков теплового шока по принципу обратной связи. Показано, что обработка семян ГДА приводит к существенному повышению конститутивного уровня белков Hsp70 в проростках и готовности клеток к активации их синтеза при стрессе.



**Рис. 2.** Иммуноблоты Hsp70 контрольных проростков (24°C) и проростков, подвергнутых тепловому стрессу (45°C, 1 ч) без обработки ГДА (2) и после обработки семян ГДА в концентрациях 1 мкмоль/л (3), 10 мкмоль/л (4) и 100 мкмоль/л (5).

#### Литература

Козеко Л.Е. Количественные изменения белков теплового шока Hsp70 и Hsp90 в



реакции проростков гороха на кратковременное действие гипергравитации // Доповіді НАН України, 2009. – №1. – С. 140-143.

Ali A., Bharadwaj S., O'Carroll R., Ovsenek N. Hsp90 interacts with and regulates the activity of heat shock factor 1 in *Xenopus* oocytes // Mol. Cell. Biol., 1998. - 18. - P. 4949-4960.

Morimoto R.I. Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators // Genes Dev., 1998. - 12. - P. 3788-3796.

Pelham H. R. B. A regulatory upstream promoter element in the *Drosophila* hsp70 heat-shock gene // Cell, 1982. - 30. - P. 517-528.

Prodromou C., Roe S.M., O'Brien R., Ladbury J.E., Piper P.W., Pearl L.H. Identification and structural characterization of the ATP/ADP-binding site in the Hsp90 molecular chaperone // Cell., 1997. - 90. - P. 65-75.

Queitsch C., Sangster T.A., Lindquist S. Hsp90 as a capacitor of phenotypic variation // Nature, 2002. – 417. - P. 618-624.

Yamada K., Fukao Y., Hayashi M., Fukazawa M., Suzuki I., Nishimura M. Cytosolic HSP90 regulates the heat shock response that is responsible for heat acclimation in *Arabidopsis thaliana* // J. Biol. Chem., 2007. - 282, N52. - P. 37794-37804.

## **ТРАНСПОРТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОТОННЫХ ПОМП ВАКУОЛЯРНОГО ТИПА НА ФОНЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В УСЛОВИЯХ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА**

Е.В. Колесникова, Н.В. Озолина, Л.В. Дударева, Т.И. Лаптева

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, yatakol@mail.ru

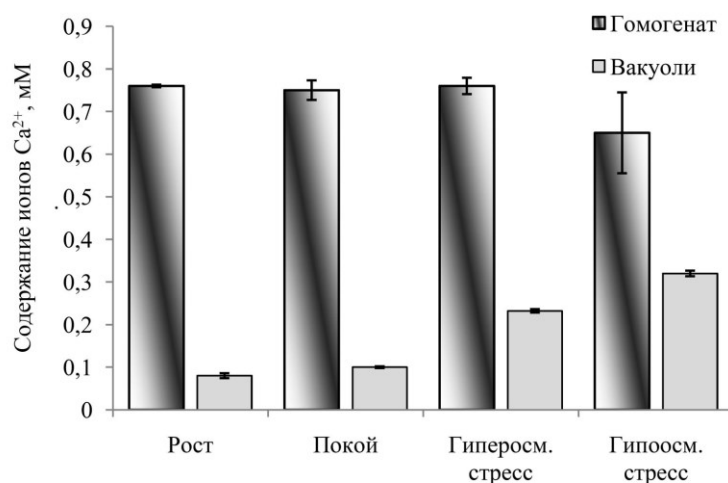
Одной из первых реакций на действие стрессора является выход кальция из внутриклеточных депо в цитоплазму, где он как вторичный мессенджер запускает ряд процессов направленных на защиту клетки [Tuteja, Sorogy, 2008]. В клетке свободный кальций может накапливаться в вакуолях [Gelli, Blumwald, 1993], эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях. Причем в последних в различных условиях абиотического стресса его количество существенно возрастает [Logan, Knight, 2003]. После запуска необходимых процессов, чтобы не произошла гибель клетки, кальций должен покинуть цитоплазму и большая его часть, по-видимому, поступает в вакуоль через  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазу и  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$  антипортер [Hirschi, 2001]. Целью данного исследования было проверить это предположение и изучить влияние осмотического стресса на изменение содержания ионов кальция, как во фракции изолированных вакуолей, так и в корнеплодах столовой свёклы. Кроме того была поставлена задача изучить влияние этого иона на активность протонных помп тонопласта ( $\text{H}^{+}$ -АТФазы и  $\text{H}^{+}$ -ПФазы), обеспечивающих работу  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$  антипортера закачивающего кальций внутрь вакуоли.

Объектом исследования служили корнеплоды столовой свёклы (*Beta vulgaris* L.) сорт Бордо. В экспериментах использовали корнеплоды, находящиеся на стадии роста и в период покоя. Покоящиеся корнеплоды хранили в овощехранилище при 4-5°C. Стрессовому воздействию подвергались только покоящиеся корнеплоды. Из ткани корнеплодов проводили изолирование вакуолей и вакуолярных мембран по разработанной ранее методике [Салаяев и др., 1981]. Для создания условий гиперосмотического стресса корнеплоды в течение 3-х суток выдерживали (подсушивали) на открытом воздухе при комнатной температуре, что приводило к частичной потере веса корнеплодов и увеличению осмотической концентрации клеточного сока. Для создания гипоосмоти-

ческого стресса очищенные корнеплоды выдерживали в течение суток в дистиллированной воде, в результате чего осмотическая концентрация клеточного сока уменьшалась. Величину осмотического давления измеряли на осмометре ОМКА 1Ц-01 (Россия). Содержание кальция определяли методом атомно-эмиссионной спектрометрии (Optima 2000 DV (Perkin Elmer, USA)). Определение проводили как в корнеплодах, так и во фракции изолированных вакуолей в нормальных и стрессированных условиях. Подготовку проб осуществляли по общепринятой методике [Ермаков и др., 1987]. Транспортную активность протонных помп тонопласта определяли методом флуоресцентных зондов [Озолина и др., 2010]. Содержание белка определяли по методу Бредфорда [Bradford, 1976]. Как источник ионов кальция вносили 2 мМ CaCl<sub>2</sub>. Поглощение ионов кальция осуществляли с помощью 2 мМ ЭГТА (этиленгликоль-бис(2-аминоэтил)N,N,N,N-тетрауксусная кислота). Для контроля специфичности реакций во всех экспериментах использовали общепринятые ингибиторы KNO<sub>3</sub> (50 мМ), KF (50 мМ) и протонифор СССР (карбонилцианид 3-хлорофенилгидразон) (10 мкМ).

По результатам, представленным на рисунке 1 видно, что содержание кальция в корнеплодах (гомогенате) и вакуолях в зависимости от фазы онтогенеза практически не меняется.

В условиях гиперосмотического стресса так же не происходило существенного изменения концентрации кальция в гомогенате, однако в гипоосмотических условиях происходило не большое снижение содержания кальция, подобное обстоятельство может быть связано с выходом ионов в раствор при инкубации корнеплодов. В вакуолях же наблюдалось достоверное увеличение содержания кальция, этот факт, по-видимому, связан с внутриклеточными перемещениями ионов кальция в ответ на стрессовое воздействие. Известно, что в клетке, одной из ранних реакций на действие стрессора является резкое увеличение содержания ионов кальция. Однако, длительное увеличение ионов кальция в цитозоле может приводить к гибели клетки [White, Broadley, 2003], поэтому в клетке существует ряд транспортных систем переправляющих излишнее количество кальция во внутриклеточные компартменты [Logan, Knight, 2003]. Полученные нами данные показывают, что вакуоли активно участвуют в депонировании ионов кальция. Причем, в условиях гипоосмотического стресса кальция накапливается в 1,4 раза больше, чем при гиперосмотическом стрессе. Подобная разница, по-видимому, связана с действием дополнительных стрессоров: гипоксии и раневого стресса.



**Рис. 1. Динамика содержания ионов кальция в корнеплодах столовой свёклы и во фракции изолированных вакуолей на разных фазах онтогенеза и в различных условиях осмотического стресса.**

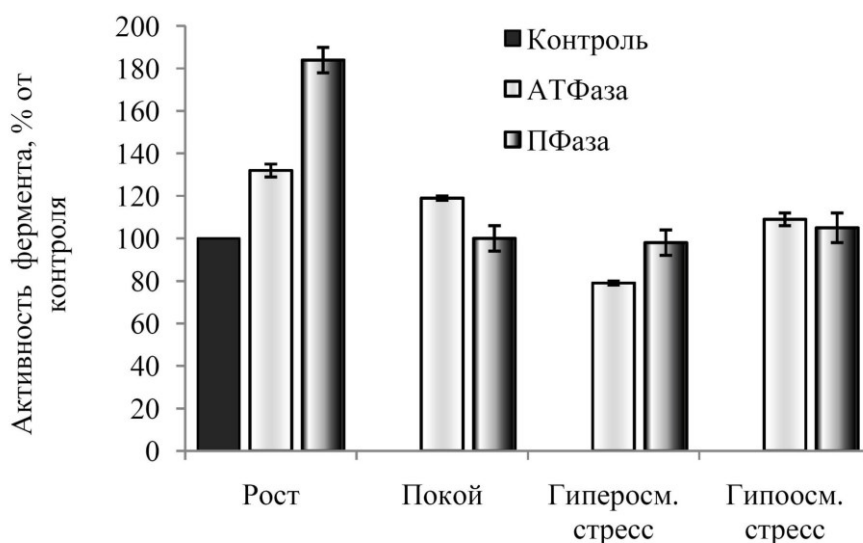
В дальнейшем проводились эксперименты по изучению влияния ионов кальция на транспортную функцию протонных помп тонопласта ( $H^+$ -АТФазы и  $H^+$ -ПФазы). Было установлено, что в условиях осмотического стресса происходило увеличение активности обеих протонных помп (таблица 1). Причем активность  $H^+$ -ПФазы была значительно выше нормы (в 2,3 и 2,7 раз при гипер- и гипоосмотическом стрессах, соответственно). Полученные результаты позволяют говорить о важной роли этих ферментов, и особенно  $H^+$ -ПФазы, в условиях осмотического стресса. Особая роль  $H^+$ -ПФазы при стрессе отмечалась и другими исследователями [Ballesteros et al., 1996].

Таблица 1

**Изменение транспортной активности протонных помп тонопласта в норме и различных условиях осмотического стресса (% $\Delta F$ / мг белка/мин)**

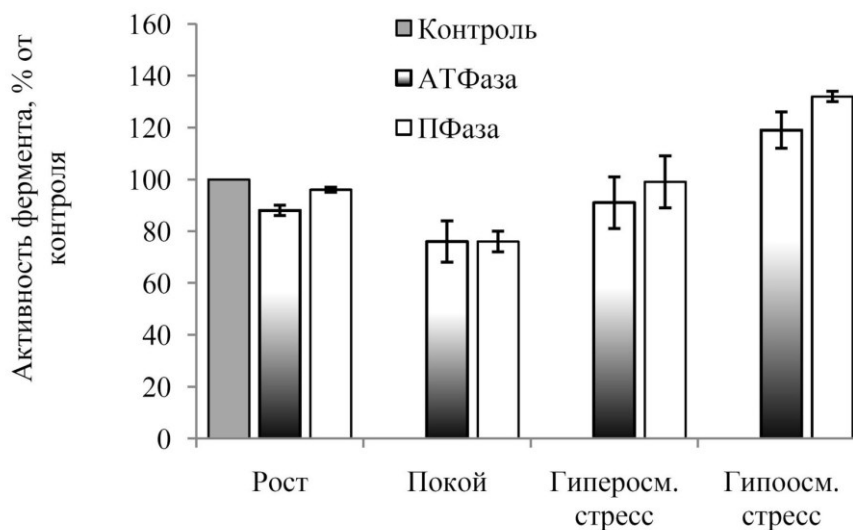
Варианты опыта	$H^+$ -ПФаза	$H^+$ -АТФаза
Покой (норма)	8,3±2	11,3±1
Гиперосм. стресс	19,2±1,25	12,9±0,6
Гипоосм. стресс	23±2	16,6±2,2

На следующем этапе наших исследований изучалась активность протонных помп тонопласта в зависимости от изменения содержания ионов кальция на разных фазах онтогенеза и при осмотическом стрессе (рис. 2 и 3).



**Рис. 2. Транспортная активность  $H^+$ -АТФазы и  $H^+$ -ПФазы тонопласта в присутствии 2 мМ ЭГТА на разных фазах онтогенеза и в различных условиях осмотического стресса.**

На представленных графиках хорошо видно, что экзогенное увеличение содержания кальция и в период роста и в период покоя приводило к ингибированию активности обеих протонных помп. В случае с удалением этого иона с помощью хелатора ЭГТА наблюдалось стимулирование активности протонных помп, особенно (до 180%) у  $H^+$ -ПФазы в период роста. В условиях гиперосмотического стресса изменения отмечались только для  $H^+$ -АТФазы в присутствии ЭГТА, происходило снижение активности на 20%. При гипоосмотическом стрессе происходило небольшое увеличение активности протонных помп, особенно (до 130%) при добавлении ионов кальция, что и должно происходить для обеспечения большей активности  $Ca^{2+}/H^+$  антипортера. Похожие результаты были получены и другими исследователями [Zhang et al., 1998].



**Рис. 3.** Транспортная активность  $H^+$ -АТФазы и  $H^+$ -ПФазы тонопласта в присутствии 2 мМ  $CaCl_2$  на разных фазах онтогенезе и в различных условиях осмотического стресса.

По результатам исследования можно заключить, что содержание ионов кальция в вакуолях корнеплодов существенно возрастает в ответ на стрессовое воздействие. Выявленное перемещение ионов кальция из цитоплазмы и других компартментов в вакуоль может проявляться как один из способов участия вакуоли в адаптационных механизмах растительной клетки. Протонные помпы тонопласта, обеспечивающие посредством  $Ca^{2+}/H^+$  антипортера поддержание гомеостаза ионов кальция в цитоплазме, повышали свою активность в условиях осмотического стресса, что позволяет говорить о важной роли этих ферментов, и особенно  $H^+$ -ПФазы, в защитных программах растительной клетки. Увеличение содержания ионов кальция в норме приводило к ингибированию активности обеих протонных помп тонопласта, тогда как при гипоосмотическом стрессе наоборот повышалось, что могло оказать влияние на восстановление гомеостаза ионов кальция в цитоплазме и успешному преодолению последствий стресса.

#### Литература

Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. и др. Методы биохимического исследования растений. – Л: Агропромиздат, 1987. 430 с.

Озолина Н.В., Колесникова Е.В., Нурминский В.Н., Нестёркина И.С., Дударева Л.В., Донская Л.И., Саяев Р.К. Влияние экзогенного донора NO и изменение содержания ионов кальция на транспортную активность протонных насосов тонопласта в онтогенезе и при гиперосмотическом стрессе // Биологические мембраны, 2010. – № 4. – С. 354-358.

Саяев Р.К., Кузеванов В.Я., Хаптагаев С.Б., Копытчук В.Н. Выделение и очистка вакуолей и вакуолярных мембран из клеток растений // Физиология растений, 1981. – № 28. – С. 1295-1305.

Ballesteros E., Dnaïire J., Belver A. Effects of salt stress on  $H^+$ -ATPase and  $H^+$ -PPase activities of tonoplast-enriched vesicles isolated from sunflower roots // *Physiol. Plant.*, 1996. – № 97. – С. 249-268.

Bradford D.P. A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilising the principal of protein-dye binding // *Anal. Biochem.*, 1976. – № 72. – С. 248-254.

Gelli A., Blumwald E. Calcium retrieval from vacuolar pools // *Plant Physiol.*, 1993. – № 102. – С. 1139-1146.

Hirschi K. Vacuolar H<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> transport: who's directing the traffic? // *Trends in Plant Science of the USA*, 2001. – № 96. – С. 766-771.

Logan D., Knight M. Mitochondrial and cytosolic calcium dynamics are differentially regulated in plants // *Plant Physiol*, 2003. – № 133. – С. 21-24.

Tuteja N., Sopory S. Chemical signaling under abiotic stress environment in plants // *Plant Signaling & Behavior*, 2008. – 3:8 – С. 525-536.

White P., Broadley M. Calcium in Plants // *Annals of Botany*, 2003. – № 92. – С. 487-511.

Zhang W., Diao F., Yu B., Liu Y. H<sup>+</sup>-ATPase and H<sup>+</sup>-transport activities in tonoplast vesicles from Barley roots under salt stress and influence of calcium and abscisic acid // *J. of Plant Nutrition*, 1998. –21(3). – С. 447-458.

### **ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ И ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ ДЕГИДРИНОВ В ХВОЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PINUS SYLVESTRIS* L.) В ТЕЧЕНИЕ ВЕГЕТАЦИОННОГО ПЕРИОДА В СВЯЗИ С ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

Н.Е. Коротаева, М.В. Оскорбина, Л.Д. Копытова, Л.А. Ломоватская,  
А.С. Романенко, Г.Г. Суворова, Г.Б. Боровский

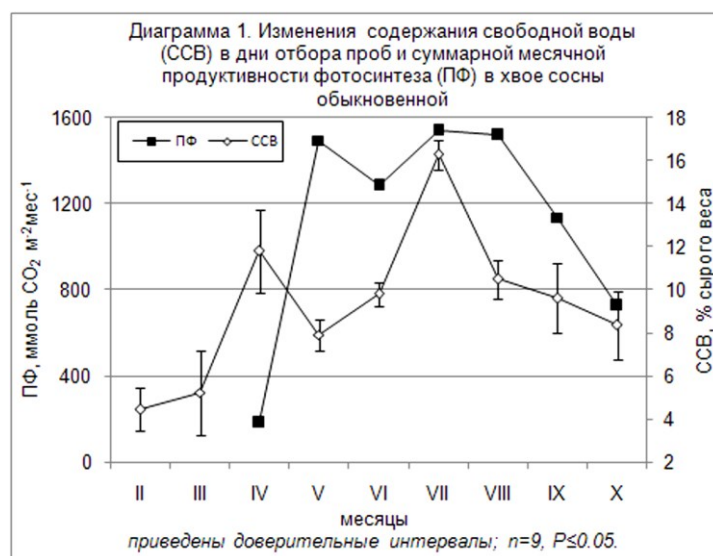
Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, knev73@sifibr.irk.ru

Воздействие низких температур воздуха и почвы в весенний период в холодных климатических зонах ограничивает эффективность фотохимических реакций сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), что в сочетании с высокой солнечной активностью приводит к фотоингибированию и вызывает окислительный стресс [Öquist, 2003]. В этот период в хвое сосны увеличивается содержание дегидринов (ДГ) [Kountunen-Soppela, 2001], предположительно, для защиты мембран и белков от повреждений, связанных с потерей воды [Nara, 2010], в том числе, при адаптивном обезвоживании в ходе холодной акклимации [Thomashow, 1999]. Содержание ДГ в хвое сосны увеличивается в период первой фазы осеннего закалывания при дисбалансе процессов поглощения и утилизации света, сопряженных с окислительным стрессом [Sofronova et al., 2012]. Вероятно, причина увеличения содержания ДГ в хвое сосны может быть не ограничена снижением содержания воды. Исследование субклеточной локализации этих белков в периоды наибольшей стрессовой нагрузки на фотосинтетический аппарат сосны (весна и осень) может прояснить причину их присутствия в клетках мезофилла хвои.

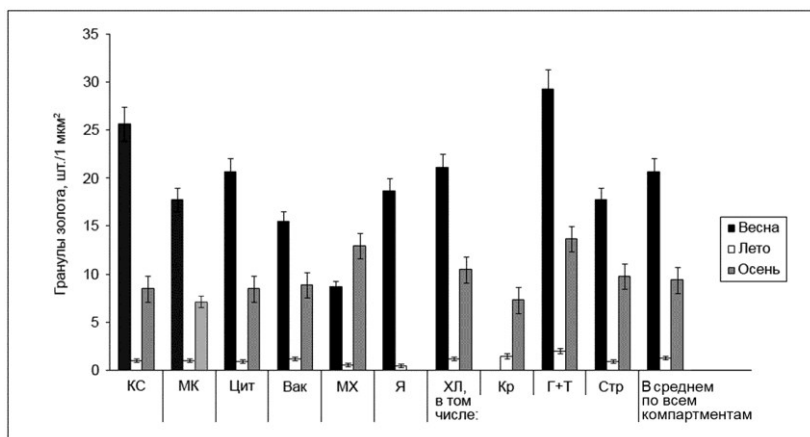
В работе использовали хвою второго года жизни, отобранную в апреле, июле и октябре 2008 г. со средней части кроны сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.). Описание экспериментального участка, методов регистрации факторов среды, определения суммарной месячной продуктивности фотосинтеза (ПФ), содержания свободной воды в хвое, выделения, фракционирования и иммунохимической детекции ДГ было приведено ранее [Korotaeva, 2012]. Иммуноцитохимическую детекцию ДГ проводили по описанному методу [Миронов, 1994]. Использовали первичные антитела против ДГ растений (любезно предоставлены Dr. T. Close, США).

Причинами низкой ПФ весной и осенью в холодном климате (Диаграмма 1) являются низкие температура воздуха, почвы и слабая влагообеспеченность [Ensminger, 2008], которые определяют снижение мезофильной проводимости и ферментативной активности [Bauer et al., 1994], низкий гормональный и трофический статус и низкую

водопоглотительную способность корневой системы [Schwarz, 1997]. В соответствии с известными данными [Kountunen-Soppela, 2001], содержание свободной воды в хвое было пониженным весной и осенью (Диаграмма 1). Содержание ДГ весной и осенью

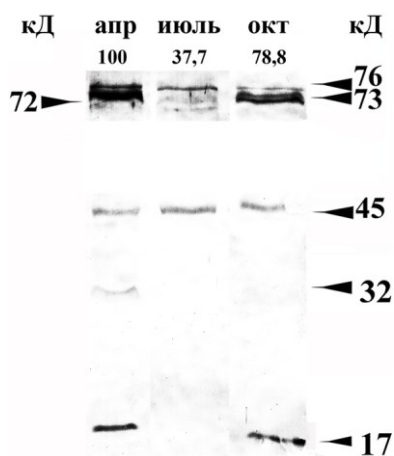


было существенно более высоким, а в середине летнего сезона, при наибольшем количестве осадков, крайне низким, что согласуется с уровнем оводненности хвои (Рис. 1, 2). Весной ДГ накапливались в гранях (Г) и тилакоидах (Т) хлоропластов (ХЛ), клеточной стенке (КС), цитозоле (Цит), ядре (Я) и межклетниках (МК) (Рис. 1). В этот период высокая суточная амплитуда температур, чередование заморозков и оттепелей могут приводить к частым сменам притока и оттока воды в функционирующих клетках мезофилла сосны, которые затрагивают в первую очередь КС, МК и Цит, возможно, этим объясняется присутствие там ДГ. Одно из назначений белков, накапливающихся при охлаждении в КС и МК, это антифризная активность [Sasidharan, 2011], которой обладают и ДГ [Wisniewski, 1999]. Можно предположить, что накопление ДГ в КС и МК весной объясняется этим свойством. Наибольшее содержание ДГ весной отмечено в Г и Т ХЛ (Рис. 1), возможно, из-за того, что ДГ способны предотвращать повреждения мембран ХЛ [Eriksson, 2011] и инактивацию ряда ферментов [Naga, 2010] при охлаждении и обезвоживании. Кроме того, граны являются местами преимущественной локализации ФС2, важного источника АФК в клетке. Весной избыточность солнечной радиации провоцирует появление АФК вблизи Г и Т ХЛ [Öquist, 2003]. Вероятно, в ХЛ весной ДГ играют роль антиоксиданта, которая связана с их способностью связывать активные формы кислорода (АФК) и ингибировать производимое ими окисление мембранных липидов [Naga, 2010]. Косвенно, это предположение подтверждается тем, что в МХ, не зависящих от освещения источниках АФК, концентрация ДГ в апреле была в 2 раза меньше, чем в среднем по клетке (Рис. 1). Кроме того, в октябре, при понижении температуры воздуха и солнечной активности, содержание ДГ по сравнению с летним периодом было повышено в равной степени как в ХЛ, так и в МХ (Рис. 1). Содержание ДГ массой 45 кД в период вегетации не изменялось (Рис. 2), очевидно, он играл наименьшую роль в сезонной адаптации клеток мезофилла хвои. Важную протекторную роль могут играть ДГ Мг 73, 72, 35 и 17 кД, содержание которых повышалось весной и осенью. Полученные данные по изменению содержания конкретных ДГ касаются суммарного пула белков хвои, поскольку в нашем распоряжении нет антител на отдельные ДГ. Поэтому вопрос, специфичны ли выявленные ДГ для определенных оргanelл, требует дополнительных исследований.



**Рисунок 1.** Изменение содержания ДГ в компартментах клеток мезофилла хвой сосны в апреле (весна), июле (лето) и октябре (осень). КС–клеточная стенка, МК-межклетник, Цит-цитозоль, Вак-вакуоль, Мх-митохондрии, Я-ядро, Хл-хлоропласты, Кр-крахмал, Г+Т–граны + тилакоиды и обе мембраны ХЛ, Стр-stroma. Приведены стандартные отклонения.  $n=45-55$ ;  $P<0.05$ .

Т.о., весной дегидриновый защитный барьер затрагивает наиболее физиологически активные компоненты клеток мезофилла хвой, что может быть связано с перераспределением воды. Повышенное накопление ДГ в Т и Г ХЛ в периоды повышенной стрессовой нагрузки на мезофилл хвой делает ДГ важными участниками сезонной адаптации фотосинтезирующих органелл сосны и происходящих в них процессов к условиям среды.



**Рисунок 2.** Изменение содержания ДГ в хвое сосны в сезонном цикле. Апр – апрель, окт – октябрь. Справа и слева обозначены молекулярные массы ДГ (кД) по данным денатурирующего электрофореза. Цифрами сверху обозначена суммарная интенсивность окрашивания белковых пятен на нитроцеллюлозной мембране после визуализации антител, равная количеству окрашенных пикселей. Интенсивность окрашивания определяли с помощью программы Gel Analysis и вычисляли как процент от окрашивания в апреле, который приняли за 100%. Приведено изображение типичной мембраны.

*Работа поддержана грантом Программы Президиума РАН “Живая природа. Динамика лесных экосистем” № 24.*

#### Литература

Миронов А.А., Комиссарчик Я.Ю., Миронов В.А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине.- С.-Петербург: Наука, 1994.- 399 с.

Bauer H., Nagele M., Comploj M., Galler V., Mair M., Unterpertinger E. Photosynthesis in cold acclimated leaves of plants with various degrees of freezing tolerance // *Physiol Plant*, 1994.- № 3.- p. 403-412.

Ensminger I., Schmidt L., Lloyd J. Soil temperature and intermittent frost modulate the rate of recovery of photosynthesis in Scots pine under simulated spring conditions // *New Phytol*, 2008.- № 2.- p. 428-442.

Eriksson S.K., Kutzer M., Procek J., Gröbner G., Harryson P. Tunable Membrane binding of the intrinsically disordered dehydrin Lti30, a cold-induced plant stress protein // *The Plant Cell*, 2011.- № 6.- p. 2391–2404.

Hara M. The multifunctionality of dehydrins: An overview // *Plant Signal Beh*, 2010.- № 25: p. 503-508.

Kontunen-Soppela S., Laine K. Seasonal fluctuation of dehydrins is related to osmotic status in Scots pine needles // *Trees*, 2001.- № 7, p. 425-430.

Korotaeva N.E., Oskorbina M.V., Kopytova L.D., Suvorova G.G., Borovskii G.B., Voinikov V.K. Variations in the content of stress proteins in the needles of common pine (*Pinus sylvestris* L.) within an annual cycle // *J For Res*, 2011.- № 1.- p. 89-97.

Öquist G., Huner N.P. Photosynthesis of overwintering evergreen plants // *Annu Rev Plant Biol*, 2003.- V. 54.- p. 329-355.

Sasidharan R., Voeselek L. A.C.J., Pierik R. Cell wall modifying proteins mediate plant acclimatization to biotic and abiotic stresses // *Crit Rev in Plant Sci*, 2011.- № 6.- p. 548–562.

Schwarz P.A., Fahey T.J., Dawson T.E. Seasonal influence of air and soil temperature on photosynthesis in red spruce (*Picea rubens*) saplings // *Tree Physiol*, 1997.- № 3.- p. 187-194.

Sofronova V.E., Maximov T.C., Korotaeva N.E., Suvorova G.G., Oskorbina M.V., Borovskii G.B. Accumulation of heat shock proteins and dehydrins in the needles of scotch pine at the early stage of the PS II photoinhibition during the autumn adaptation of plants to winter conditions // *Dokl Biol Sci*, 2012.- № 1.- p. 113-116.

Staehelin L.A., van der Staay G.W.M. Structure, composition, functional organisation and dynamic properties of thylakoid membranes. In: Ort D.R., Yocum C.F. (eds) *Oxygenic photosynthesis: the light reactions*. – Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996.- 684 p.

Thomashow M.F. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms // *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1999.- V. 50.- p. 571-599.

Wisniewski M., Webb R., Balsamo R., Close T. J., Yu X.-M., Griffith M. Purification, immunolocalization, cryoprotective, and antifreeze activity of PCA60: a dehydrin from peach (*Prunus persica*) // *Physiol Plant*, 1999. - № 4.- p. 600 - 608.

## **ВЛИЯНИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ НУКЛЕИНОВОГО ОБМЕНА У РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ**

Н.А. Кузембаева, А.И. Насонов

Краснодарский НИИ сельского хозяйства им. П.П. Лукьяненко Россельхозакадемии,  
Краснодар, molbiokniish@mail.ru

Селекция ячменя на зимо- и морозостойкость предполагает получение биологических групп озимых сортов, обладающих необходимыми признаками, в целях отбора наиболее ценных растений. Известно, что воздействие низких температур повышает морозостойкость и зимостойкость злаков. Однако, молекулярные процессы, происходящие в период закалки растений, изучены не в полной мере.

В данном исследовании мы изучали влияние низких положительных температур



на показатели нуклеинового обмена у растений озимого ячменя. Ранее было установлено [Топтиков, 2010], что экстремальные температурные условия (переменное воздействие нормальной ( $+26^{\circ}\text{C}$ ) и низкой ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) температуры) приводили к усилению функциональной активности генома у яровых и озимых форм пшеницы и ячменя, причём у яровых генотипов эффект был в два раза выше. Следовательно, существует отличие между яровыми и озимыми формами злаков в их ответной реакции на стрессовые условия. Для нас представляло интерес выяснить, различаются ли сорта озимого ячменя, контрастные по устойчивости к неблагоприятным температурным условиям, по показателям нуклеинового обмена.

В нашей работе использовались две группы контрастных по устойчивости к низкой температуре сортов озимого ячменя, выявленные методом прямого промораживания в ящиках. При этом было установлено, что сорта отечественной селекции, как правило, отличаются большей устойчивостью к морозу, чем иностранные.

Семена проращивали в темноте на смоченной в дистиллированной воде бумаге при температуре  $+20^{\circ}\text{C}$ . Четырёхсуточные проростки помещали в различные температурные и световые условия и проводили сравнительный анализ содержания нуклеиновых кислот в них [Трудолюбова, 1977]. Для анализа брали проростки в возрасте пяти-шести суток.

В процессе проращивания было отмечено, что образцы зарубежной селекции обладают более интенсивным ростом (в среднем на 13%), чем сорта отечественной селекции. На этиолированных проростках было показано, что в результате низкотемпературной обработки не происходит каких-либо значительных изменений в содержании ДНК у слабо- и высокоморозоустойчивых сортов (таблица 1). В отношении содержания РНК отмечено снижение этого показателя у более устойчивых сортов в среднем на 9% у этиолированных проростков, выращенных при температуре  $+6^{\circ}\text{C}$  по сравнению с выращенными при  $+20^{\circ}\text{C}$ . Образцы слабоморозоустойчивых сортов, наоборот, отличаются повышенным содержанием РНК у растений, выращенных при  $+6^{\circ}\text{C}$ . Аналогичная картина наблюдалась и для зелёных проростков: содержание РНК и ДНК у высокоморозоустойчивых сортов практически не менялось при выращивании при низкой температуре по сравнению с растениями, выращенными при  $+20^{\circ}\text{C}$ .

В качестве показателя активности генома мы использовали отношение РНК/ДНК. Эта величина является характеристикой относительной биосинтетической активности клетки, одним из основных кинетических параметров процесса клеточной дифференцировки [Переверзев, 2001]. Нами было показано, что отношение РНК/ДНК, или индекс транскрипционной активности, значительно увеличивался (на 14-17%) при низкотемпературном воздействии у растений ячменя слабоморозоустойчивых сортов (табли-

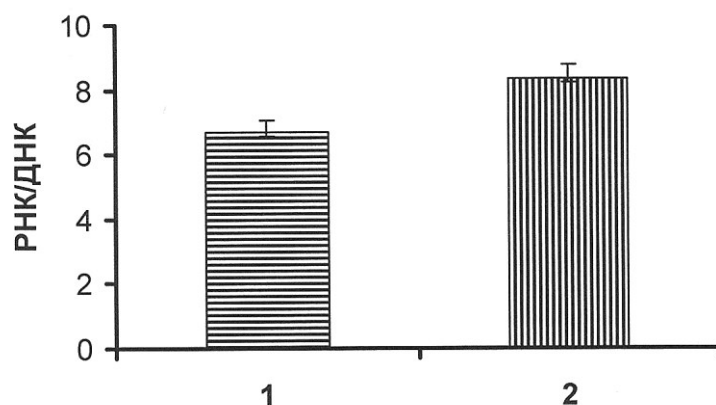


Рис. 1. Индекс транскрипционной активности для группы высоко- (1) и слабоморозоустойчивых (2) сортов озимого ячменя.

Таблица 1

**Влияние низкотемпературного воздействия на показатели нуклеинового обмена этилированных проростков озимого ячменя**

Сорта	+ 20 <sup>0</sup> С			+ 6 <sup>0</sup> С		
	РНК	ДНК	РНК/ ДНК	РНК	ДНК	РНК/ ДНК
высокоморозоустойчивые						
Фараон	0,461±0,002	0,081±0,009	5,69	0,467±0,002	0,089±0,009	5,25
NB	0,429±0,002	0,089±0,007	5,77	0,615±0,019	0,102±0,042	5,59
слабоморозоустойчивые						
Хайлайт	0,542±0,003	0,093±0,006	4,50	0,689±0,001	0,106±0,001	6,50
Amarena	0,419±0,003	0,093±0,006	5,83	0,571±0,001	0,085±0,011	6,72
Циндерелла	0,813±0,001	0,139±0,007	5,85	0,736±0,001	0,127±0,006	5,79

ца 2). Таким образом, наблюдались отличия между группами высоко- и слабоустойчивых сортов ячменя при низкотемпературном воздействии, при этом значение отношения РНК/ДНК было выше у слабоморозоустойчивых сортов в среднем на 25% (рис. 1.).

Изменения содержания нуклеиновых кислот и отношения РНК/ДНК отмечались и другими авторами при исследовании влияния стрессового воздействия (солевой стресс и воздействие неблагоприятных температур) на устойчивые и слабоустойчивые образцы баклажана [Шарифова, 2009] и культуру клеток *Polyscias filicifolia* [Кириллова и др., 2011]. Полученные результаты подтверждают наш вывод о том, что толерантность растений к стрессу определяется изменениями, происходящими на молекулярном уровне. В наших исследованиях показано, что сорта ячменя, более устойчивые к холодному стрессу, имеют более стабильные показатели нуклеинового обмена. Неустойчивые к низким температурам сорта ячменя, исследованные в нашей работе, обладали более интенсивным ростом. Возможно, эта особенность является свойством, снижающим их толерантность к неблагоприятным условиям среды. Нами установлена обратная корреляционная зависимость между морозостойкостью сорта и индексом его геномной активности (показателем РНК/ДНК). Коэффициент корреляции составил 0,91 при уровне значимости  $P < 0,05$ .

Таблица 2

**Влияние низкотемпературного воздействия на показатели нуклеинового обмена зелёных проростков озимого ячменя**

Сорта	+ 20 <sup>0</sup> С			+ 6 <sup>0</sup> С		
	РНК	ДНК	РНК/ ДНК	РНК	ДНК	РНК/ ДНК
высокоморозоустойчивые						
Фараон	0,868±0,018	0,147±0,006	5,90	0,958±0,006	0,147±0,001	6,52
NB	0,671±0,027	0,115±0,008	5,89	0,936±0,013	0,119±0,008	7,86
Белогорыч	0,705±0,028	0,092±0,009	7,66	0,552±0,031	0,092±0,007	6,00
Романс	0,785±0,027	0,116±0,009	6,77	0,709±0,026	0,113±0,009	6,27
слабоморозоустойчивые						
Хайлайт	0,670±0,034	0,102±0,001	6,65	1,131±0,009	0,140±0,007	8,08
Amarena	0,721±0,027	0,126±0,001	5,71	0,923±0,001	0,110±0,008	8,39
Boreal	0,727±0,004	0,085±0,008	8,55	0,733±0,021	0,085±0,004	8,62
Carola	0,790±0,038	0,109±0,009	7,90	0,799±0,017	0,101±0,004	7,91

Таким образом, на основании полученных нами данных можно заключить:

1) сорта озимого ячменя отличаются по устойчивости к низкой положительной температуре, что напрямую связано с особенностями функционирования их генома и выявляется при анализе биохимических показателей нуклеинового обмена (содержание нуклеиновых кислот и отношение РНК/ДНК);

2) показатель транскрипционной активности может быть использован для отбора групп сортообразцов ячменя в селекции на морозостойкость.

#### Литература

Кириллова Н.В., Белых Ю.В., Спасенков А.И. Влияние салициловой кислоты на биосинтез нуклеиновых кислот в культивируемых клетках *Polyscias filicifolia* при воздействии неблагоприятных температур // Прикладная биохимия и микробиология, 2011. – №4. – С.474-478.

Переверзев Б.Л. Подход к экспериментальному изучению функции генома клетки // РХЖ, 2001. – №1. – С. 88-91.

Топтиков В.А., Дьяченко Л.Ф., Тоцкий В.Н. Некоторые физиолого-биохимические показатели озимых и яровых генотипов злаков при действии экстремальных температурных условий // Вістник ОНУ, 2010. – Т.15, Вып.6. – С. 49-55.

Трудолюбова М.Г. Количественное определение РНК и ДНК в субклеточных фракциях животных // Современные методы биохимии: под ред. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 313-319.

Шарифова С.С. Изучение влияния абиотических стрессовых факторов на устойчивые и слабоустойчивые образцы баклажана // Современные проблемы науки и образования. Биологические науки, 2009. – №6. – С. 29-32.

### **НАКОПЛЕНИЕ ЗАПАСНЫХ ВЕЩЕСТВ ДУБОМ ЧЕРЕШЧАТЫМ В ЭКОТОПАХ С КОНТРАСТНЫМИ ПОЧВЕННЫМИ УСЛОВИЯМИ**

Н.Ю. Кулакова, Н.Ф. Каплина, Н.Г. Жиренко

Институт лесоведения РАН, Московская обл., с. Успенское, nkulakova@mail.ru

Важной задачей изучения устойчивости дуба черешчатого, площадь насаждений которого в Европейской части континента в настоящее время сокращается [Miguel A. B-M, Alberto R, JuanG. Á, Agustín M, 2006 и S. Helama, A. Läänelaid, J. Raisio and H. Tuomenvirta, 2009], является исследование особенностей его адаптаций к неблагоприятным условиям внешней среды.

*Целью работы* было выяснить, как отражаются солонцеватость и слабое засоление почв на накоплении пластических углеводов дубом черешчатым. Этот показатель в свою очередь характеризует устойчивость деревьев к неблагоприятным факторам среды и по нему можно судить о состоянии как отдельных деревьев, так и всего насаждения в целом.

*Методы исследования.* Определение растворимых углеводов проводили фотометрическим методом с пикриновой кислотой (модификация Соловьева), крахмала – на поляриметре СУ-5 по Эверсу, содержания азота в почве – методом Кьельдаля, общего углерода – по Тюрину [Практикум по агрохимии, 2001].

Работа проводилась в Теллермановском опытном лесничестве ИЛАН (111°20'53"N, 41°58'35"E, 160 m a. sl.), на коренном берегу реки Хопер. Серые лесные почвы, занимающие основную часть междуречий и склонов коренного берега, на некоторых, небольших по площади, верхних участках пологого склона коренного берега сменяются солонцовыми почвами. Здесь располагаются безлесные участки, с преобла-

данием полыни в составе растительных ассоциаций. Дубравы, прилегающие к полянам, имеют низкий бонитет. К плакору и склонам коренного берега, занятым серыми лесными почвами, приурочены высокобонитетные дубравы.

В исследуемых экотопах на солонцеватых почвах дуб выдерживает смешенное засоление 3 - 4 ммоль/100 г почвы в верхней 50 см части почвенного профиля до 10 ммоль/100г почвы на глубине 120-140 см, с преобладанием сульфатов кальция и магния: ион  $\text{SO}_4^{2-}$  составляет 64-68 % от суммы солей,  $\text{HCO}_3^-$  – 4-8 %,  $\text{Ca}^{2+}$  – 8-20 %,  $\text{Mg}^{2+}$  – 5-8 %, а  $\text{Na}^+$  – 7-14 %. Такое засоление увеличивает физиологическую сухость почв, в то же время, концентрация ионов не является токсичной для растений. Пограничным для распространения дуба черешчатого в данных условиях является засоление до 10 ммоль/100г почв с преобладанием в составе солей иона натрия, карбонат- и бикарбонат-ионов, сопровождающееся сменой дубрав на травянистую растительность.

В профиле почв под высокобонитетными дубравами легкорастворимые соли отсутствуют. Гумусовые горизонты почв высокобонитетных дубрав содержат больше углерода и азота, чем почвы дубрав на засоленных почвах: 4-4,5 и 2-3 % С и 0,5 и 0,2 % N соответственно. Между дубравами, адаптированными к засоленным почвам и дубравами на незасоленных почвах наблюдаются существенные отличия по особенностям роста, продуктивности и состояния.

Изученные древостои дуба на солонцовых и серых лесных почвах характеризуются следующими показателями, соответственно: феноформа – ранняя и поздняя, возраст – 80 и 120 лет, максимальная высота – 15 м и 33 м, сумма площадей сечений – 7,5 и 24,1 м<sup>2</sup> га<sup>-1</sup>, сумма площадей проекций крон – 0,18 и 0,37 га га<sup>-1</sup>, площадь поверхности листьев – 2,9 и 3,3 га га<sup>-1</sup>. Состояние рассматриваемых древостоев в последние 25 лет изменяется от слабо до сильно ослабленного (причем в противофазе), оставаясь стабильным на временных отрезках до 3 - 20 лет. Максимальный годичный радиальный прирост ствола (2012 г.) в солонцовом древостое значительно меньше – 2,2 мм (включая 2 слоя сосудов), чем в высокобонитетном – 3,7 мм (включая 3 слоя сосудов).

Содержание растворимых углеводов исследовалось в листьях, собранных в июле 2012 г., в дневное время. Оказалось, что содержание полисахаридов в листьях деревьев разных экотопов примерно одинаково – 2,7-3,2% от веса сухого вещества, а содержание моносахаридов в листьях деревьев на засоленных почвах в 1,5 раза выше – 9,5 и 6,5% соответственно. Возможно, отток сахаров из листьев деревьев на засоленных почвах затруднён в связи с высоким дефицитом влаги.

Накопление крахмала в тканях дуба черешчатого к концу вегетационного периода (конец октября) мало зависело от почвенных условий, а определялось развитием крон деревьев. Последнее оценивалось по [Каплина, Селочник, 2009]. Авторы выделяли три типа крон, соответствующие классу жизненности по признакам роста и развития, характерным именно для дуба черешчатого (раскидистая, зонтиковидная, узкокронная). В лубе деревьев с раскидистой и зонтикообразной кроной содержание крахмала равнялось 35- 42%, а в лубе деревьев с узкой кроной составляло около 20%. Содержание крахмала в заболони более сильно варьировало, но в целом, у узкокронных деревьев в разных экотопах было несколько ниже, чем у деревьев с зонтиковидной и раскидистой кронами. В первом случае оно изменялось от 15 до 18 % от веса сухого вещества, а во втором – от 18 до 26 %. Содержание крахмала в тонких ветвях и в побегах текущего года в экотопах с контрастными почвенными условиями составляло 25-32% от веса сухого вещества. Таким образом, у деревьев низкого класса жизненности запасы крахмала были существенно ниже, чем у деревьев с высокими показателями жизненности как в более хороших так и в экстремальных почвенных условиях.

Отметим, что доля узкокронных деревьев - с ослабленным накоплением запасных углеводов - в солонцовой дубраве в год учета была ниже, чем в высокопродуктивной:

соответственно 23% и 34%. Это связано с высокой полнотой и конкуренцией в последней. Выживаемость деревьев в солонцовой дубраве за последние четверть века несколько выше, чем в высокопродуктивной (более 50%). Это свидетельствует о высокой устойчивости солонцового древостоя.

В дальнейшем нам представляется важным проследить сезонную динамику пластических углеводов и суточную динамику содержания растворимых сахаров в тканях и органах деревьев дуба черешчатого, произрастающих в контрастных почвенных условиях.

*Работа поддержана РФФИ (гранты 12-04-01347) и Программой фундаментальных исследований ОБН РАН «Биологические ресурсы России: Динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий».*

#### Литература

Каплина, Н.Ф., Селочник Н.Н. Морфология крон и состояние дуба черешчатого в средневозрастных насаждениях лесостепи // Лесоведение. - 2009. - № 3. - С. 32-42.

Практикум по агрохимии (под ред. Минеева В.Г.). - Москва: МГУ, 2001-688 с.

Helama S., Läänela A., Raisio J. and Tuomenvirta H. Oak decline in Helsinki portrayed by tree-rings, climate and soil data// Plant and Soil (2009) Volume 319, Numbers 1-2, 163-174.

Miguel A. B-M, Alberto R, JuanG. Á, Agustín M. Carbon and nutrient stocks in mature Quercus robur L.stands in NW Spain//Ann. For. Sci. 63 (2006) 557–565.

### **АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ ПЛОДОВ ЯБЛОНИ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ГОРАХ НА РАЗНЫХ ВЫСОТАХ**

Т.Х. Кумахова, И.В. Скоробогатова

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева,  
Москва, tkumachova@gmail.com

Проблема адаптации растений к изменяющимся условиям внешней среды представляет не только фундаментальный интерес, но и имеет немаловажное прикладное значение, поскольку культурные растения, как и природная растительность зачастую подвергаются действию одновременно нескольких неблагоприятных факторов. В связи с этим у них выработались механизмы устойчивости к целому ряду стрессовых факторов. Одним из них является изменение гормонального статуса растений, которую называют «кросс-адаптацией» [Hale, 1964]. Особую роль в ответных реакциях растений в последние годы отводят абсцизовой кислоте (АБК) – гормону стресса.

Целью настоящей работы было определение содержания фитогормонов (ИУК, ЦК, ГК, АБК) в разных тканях плода яблони, произрастающих в горах на разных высотах. Нас также интересовало соотношение фитогормонов ЦК+ГК к ингибитору АБК. Параллельно мы исследовали особенности ультраструктуры пластидной и эндомербранной системы, непосредственно участвующих в синтетических процессах.

Биоиндикаторной культурой для исследований в этом плане на наш взгляд, может стать яблоня, обладающая высокой экологической пластичностью. Материал (зрелые плоды разных сортов *Malus domestica* Borkh.) собирали из средней части кроны 3-х модельных деревьев, произрастающих в горах Северного Кавказа на разных высотах (600-1200 м над ур. м). Для изучения ультраструктуры клеток плодов яблони в просвечивающем электронном микроскопе материал фиксировали глутаральдегидом на какодилатном буфере и заливали в эпон по стандартной методике. Ультратонкие срезы изго-

тавливали на ультрамикротоме ЛКВ-III, контрастировали 2% – ным водным раствором уранилацетата (37<sup>0</sup>С) и цитратом свинца по Рейнольдсу [Reynolds, 1963]. Содержание фитогормонов (абсцизовая кислота – АБК, гибберелловая кислота – ГК, индолилуксусная кислота – ИУК, цитокинины – ЦК) определяли по методике подробно описанной нами ранее [Кумахова, Скоробогатова, 2011].

Проведенные нами исследования показали, что суровые условия гор, характеризующиеся высокой интенсивностью солнечной радиации богатой ультрафиолетовыми лучами, пониженной температурой, сопровождающееся резкими колебаниями в течение суток и специфическими микроклиматическими условиями оказывают влияние на ультраструктурные признаки клеток перикарпия и содержание основных фитогормонов в плодах яблони.

Согласно нашим материалам одним из выраженных маркерных ультраструктурных перестроек является наличие во внутренних пространствах мембран тилакоидов пластид эпидермальных клеток электронно-плотных образований, вероятно, свидетельствующих об их участии в синтетических процессах. Возможно, пластиды клеток плодов яблонь являются не только местом отложения различных веществ, они также могут принимать участие в биосинтезе ряда фитогормонов. Кроме того, в этих клетках наблюдается полярность в развитии эндоплазматического ретикулаума (ЭР). Ближе к наружной тангенциальной стенке клеток эпидермы расположены скопления длинных цистерн гранулярного ЭР, а внутренней – компактно собранные трубочки агранулярного ЭР. Формирование двух типов ЭР в пределах одной клетки встречается довольно редко. По нашему мнению это свидетельствует о высоком уровне метаболизма в них. Сильно развитый агранулярный ЭР характерная особенность терпеноидогенных клеток [Vassilyev, 2000]. Максимальное его развитие, по мнению авторов коррелирует с наиболее интенсивным биосинтезом терпеноидов и липофильных веществ. К этим веществам также относят ГК - гормон роста и АБК – ингибитор роста. Вероятно, при понижении температуры в горах агранулярный ЭР участвует в синтезе гиббереллинов, а при ее повышении – абсцизовой кислоты. Поскольку процессы метаболизма клетки могут регулироваться изменением экспрессии генов в ответ на изменение температуры, такой ход событий вполне возможен [Thomashow, 1999].

В клетках плодов всех изученных сортов яблонь, независимо от высоты произрастания уровень ИУК незначительный. Наибольшее ее количество содержится в клетках «кожицы» (эпидерма и гиподерма) плодов среднеспелого сорта (12,18 нг/г сыр. мас), а наименьшее в позднеспелых плодах, выращенных на высоте 600 м (5,22 нг/г сыр. мас). При этом по содержанию ИУК в клетках паренхимы плоды средне- и позднеспелых сортов практически не различаются (8,70-8,75 нг/г сыр. мас). На высоте 1200 м в плодах обеих сортов за исключением паренхимной части среднеспелого сорта содержание уровня ИУК ниже уровня чувствительности хроматографа. Что касается ЦК, то у изученных плодов наблюдаются не сильно выраженные различия. Содержание ЦК в клетках «кожицы» почти в 2 раза больше, чем в паренхимной части (47,42-18,55 нг/г сыр. мас). Однако он значительно выше в плодах всех сортов, выросших на 600 м, особенно в клетках «кожицы». Уровень ГК по сравнению с другими фитогормонами значительно выше в клетках плодов всех сортов. При этом отмечаются большие различия в его содержании в клетках «кожицы» и паренхимы. Наибольшее содержание ГК наблюдается в клетках «кожицы» плодов позднеспелого сорта, произрастающего на высоте 1200 м (205,87 нг/г сыр. мас), а наименьшее – в паренхимной части перикарпия этого же сорта на высоте 600 м (30,00 нг/г сыр. мас). Уровень АБК по сравнению с ГК изменяется противоположным образом, за исключением клеток паренхимы среднеспелых плодов, выращенных на высоте 600 м. Наибольшее ее количество обнаружено в клетках паренхимы плодов средне- и позднеспелых сортов, выращенных на высоте 1200 м, а наимень-

шее в клетках «кожицы» на этой же высоте (76,50-15,30 нг/г сыр. мас). Как известно в процессе биосинтеза фитогормоны (ЦК, ГК и АБК) имеют общего предшественника – мевалоновую кислоту. Образование АБК и ГК из мевалоновой кислоты идет до фарнезилпирофосфата, после чего пути их синтеза расходятся. Наличие общих предшественников дает возможность предполагать, что в зависимости от факторов внешней среды уровень этих фитогормонов может меняться.

Все большее значение в последние годы придают определению соотношения фитогормонов. По нашим данным соотношение суммы фитогормонов - стимуляторов (ЦК+ГК) к ингибитору АБК показывает, что изученные плоды яблони существенно различаются по данному показателю. Самые высокие суммарные показатели (ЦК+ГК) отмечаются в клетках всех плодов, выращенных на высоте 1200 м, а самые низкие – у среднеспелого сорта на 600 м. Этот показатель в целом ниже и в клетках паренхимы, по сравнению с клетками «кожицы». В фотосинтезирующих тканях ГК и АБК образуются в хлоропластах. Если учесть этот фактор, то можно предположить, что в хлоропластах клеток «кожицы» продолжается интенсивный синтез фитогормонов-стимуляторов, тогда как синтез АБК замедлен, о чем свидетельствует довольно низкий уровень этого фитогормона. При стрессовых ситуациях (пониженная температура, УФ, водный стресс и др.) снижается содержание фитогормонов – активаторов и резко повышается активность ингибиторов – АБК и этилена. При этом их накопление приводит к снижению активного состояния клеток и тканей, т.е. снижению синтеза белка, нуклеиновых кислот и торможению роста [Полевой, 1982].

Таким образом, полученные нами материалы позволяют предположить, что в основе адаптивных реакций плодов яблони к суровым горным условиям лежит, прежде всего, физиологическая пластичность, а затем структурная. Возможно, выявленные изменения в гормональном балансе и ультраструктурные перестройки компартментов клеток перикарпия необходимы для переключения на «стрессовые программы».

#### Литература

- Кумахова Т.Х., Скоробогатова И.В. Фитогормоны и ультраструктура плодов яблони, в зависимости от условий произрастания // Известия ТСХА . 2011. N 4. С. 81-95.
- Полевой В.В. Фитогормоны. Л. 1982. 248 с.
- Vassilyev A.E. Quantitative ultrastructural data of secretory duct epithelial cells in *Rhus toxicodendron* // Ann. Rev. Plant Sci. 2000. Vol. 61. N4. P. 615-630.
- Hale H.B. Cross adaptation // Environ Res. 1964 N2 p.423-434
- Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy // J. Cell Biol., 1963. V. 17. P. 208-212.
- Thomashow M.F. Plant cold acclimation, freezing tolerance genes and regulatory mechanisms // Ann. Rev. Plant Phys. 1999. Vol. 50. P. 571-599.

### **ЭНДОГЕННЫЕ ОЛИГОСАХАРИНЫ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ РАСТЕНИЙ – РЕГУЛЯТОРЫ ПРОЦЕССА КОРНЕОБРАЗОВАНИЯ В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА**

И.А. Ларская

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, pzl@mail.ru

Хорошо развитая корневая система является одним из ключевых факторов, позволяющим растениям успешно конкурировать за питательные ресурсы. При этом молекулярные механизмы формирования архитектуры корня до сих пор плохо охарактери-

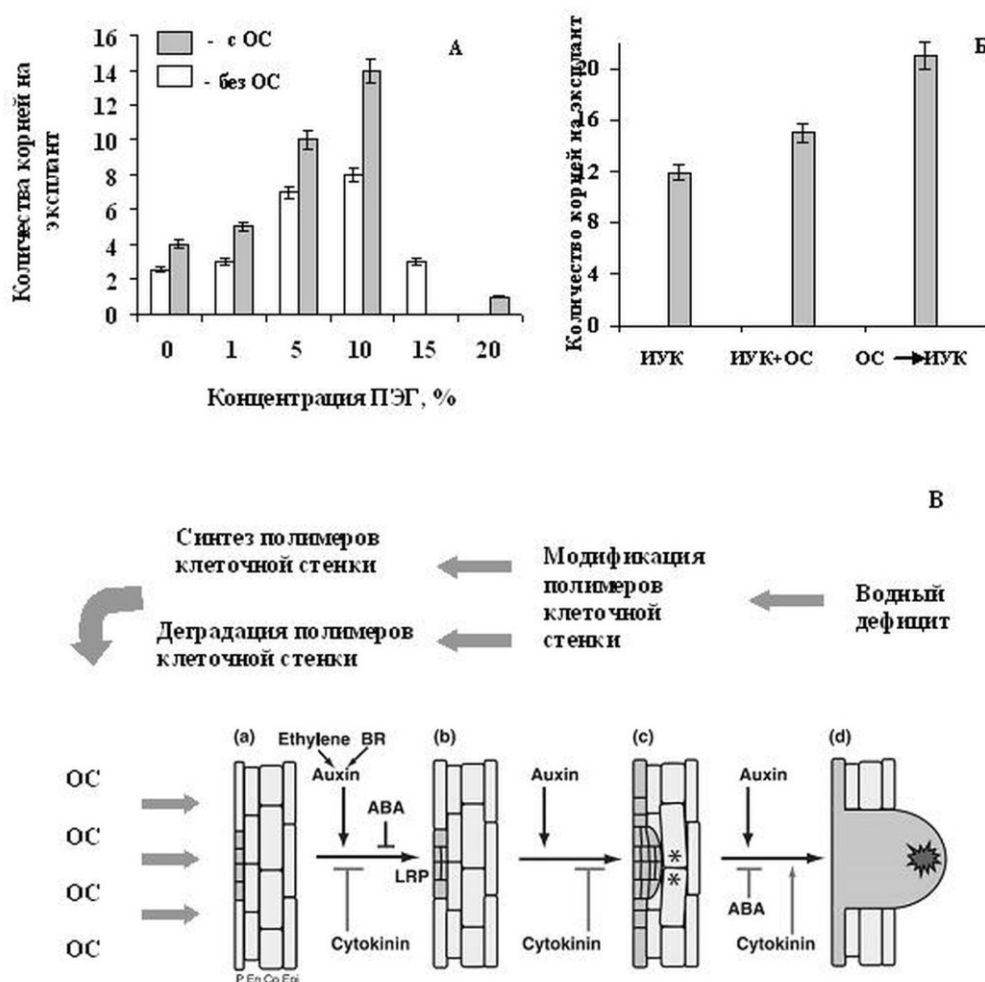
зованы, поскольку контролируются большим количеством внутренних и внешних факторов. В качестве участника данного процесса, по нашему мнению, могут выступать фрагменты полисахаридов клеточной стенки, обладающие биологической активностью. Активные фрагменты полисахаридов клеточной стенки, получившие название «олигосахарины», первоначально были идентифицированы как элиситоры защитных реакций, а позднее было показано их участие в регуляции роста и развития растений [Albersheim et al., 1983; Tran Than Van et al., 1985]. Однако встречается очень мало работ, в которых олигосахарины рассматриваются как эффекторы и защитных и морфогенетических реакций одновременно [Hemandez et al., 2006]. Кроме того, практически во всех работах исследовались эффекты олигосахаридов, образованных в результате кислотного или ферментативного гидролиза предварительно выделенных клеточных стенок. Но, в таких случаях, всегда оставался открытым вопрос о наличии таких молекул *in vivo*. В нашей лаборатории была разработана методика получения эндогенных олигосахаридов из буферорастворимой фракции клеточной стенки проростков гороха с последующей многоступенчатой хроматографической очисткой данной фракции [Заботина и др., 1997]. Полученная фракция, обладала способностью увеличивать количество корней на различных модельных системах: эксплантах из гипокотилей гречихи, листовых эксплантах табака, кусочках корней кукурузы.

В работе по исследованию эффекта олигосахарина на процесс корнеобразования в условиях водного дефицита использовали кусочки корней кукурузы, которые культивировали на среде MS/2 [Murashige, Scoog, 1962]. Подсчет корней проводили визуально на 7 сутки культивирования. Для создания водного дефицита применяли раствор ПЭГ 6000, который вносили в среду выращивания эксплантов до конечной концентрации от 1% до 20%. ПЭГ в концентрации 1% слабо влиял на количество корней, а при концентрации 20% наблюдалось полное отсутствие корней на эксплантах. Умеренный водный дефицит (5-10% ПЭГ) вызывал увеличение количества корней на эксплантах (рис.1,а). Внесение фракции олигосахарина (5 мкг/мл) в среду культивирования не ускоряло время появления корней. Однако их развитие шло быстрее, и на момент завершения эксперимента количество корней на среде с олигосахаридом было выше, чем на среде без него, особенно при концентрации ПЭГ 5% и 10%. Кроме того, в присутствии олигосахарина небольшое количество корней появлялось на эксплантах даже при концентрации ПЭГ 20%.

Формирование латеральных корней представляет собой определенную последовательность стадий, начиная от антиклинального деления «founder cells», для чего необходим определенный градиент ИУК, через серию клеточных делений с последующим формированием активной меристемы, до появления латерального корня на поверхности [Laskowski et al., 1995]. Ауксин является ключевым фактором данного процесса, участвуя как в запуске реакции корнеобразования, так и на более поздних стадиях [Smet et al., 2007]. Нами было показано, что олигосахарин, внесенный в среду выращивания вместе с ИУК, вызывал дополнительное увеличение корней в сравнении с одним гормоном. Но наибольший эффект олигосахарина проявлялся, если он добавлялся до гормона (рис.1,б). Таким образом, можно предположить, что олигосахарин действует до стадии запускаемой ИУК, то есть до ассиметричного деления “founder cell”. На основании полученных данных можно предположить следующую последовательность событий (рис.1,в). Полимеры клеточной стенки находятся в постоянном обмене как в ходе роста и развития растений, так и в ходе приобретения ими устойчивости к неблагоприятным факторам [Wu, Cosgrove, 2000]. В последнем случае напряженность обменных реакций возрастает, поскольку растения приспосабливаются к новым условиям существования и все клеточные компартменты подвергаются модификации [Leucci et al., 2008]. При этом либо за счет поступления нового материала необходимого для постро-



ения новой клеточной стенки, либо за счет работы гидролитических ферментов, активность которых возрастает в стрессовых условиях [Konno et al., 2008] может происходить увеличение пула биологически активных фрагментов клеточной стенки. И стимулирование корнеобразования под действием фракции олигосахаридов в условиях умеренного водного дефицита, который мы искусственно создаем в наших экспериментах, может быть отражением процесса, имеющего место в растениях при переживании ими засушливых условий.



**Рис.1.** Формирование латеральных корней в условиях водного дефицита и при действии олигосахарина (ОС).

**А.** Образование корней на эксплантах в зависимости от концентрации ПЭГ 6000 в среде культивирования.

**Б.** Влияние олигосахарина на образование корней на эксплантах.

Варианты: «ИУК» - экспланты культивировали все время на среде с гормоном, «ИУК+ОС» - экспланты культивировали все время на среде с обоими эффекторами, «ОС → ИУК» - экспланты культивировали в течение часа на среде с ОС и затем переносили на среду с ИУК.

**В.** Гипотетическая схема, иллюстрирующая возможное участие ОС в ИУК-индуцируемом корнеобразовании в условиях водного дефицита.

Концентрация ИУК = 3 мкМ, ОС = 5 мкг/мл.

#### Литература

Заботина О.А., Гурьянов О.П., Аюпова Д.А., Лозовая В.В., Белдман Г., Вореген А.Д. Выделение и анализ растворимых олигосахаридов из побегов гороха, стимули-

рующих процесс корнеобразования // Биохимия, 1997. - Т.62. - С.988-992.

Albersheim P., Darvill A., McNeil M., Valent B.S., Sharp J.K., Nothnagel E.A., Davis K.R., Pamazaki N., Gollin D.J., York W.S., Dudman W., Darvill J.E., Dell A. Oligosaccharines: naturally occurring carbohydrates with biological regulatory functions. In: Structure and function of plant genomes. NY: Plenum Press, 1983. - P.293-311.

Hernandez G., Sepulveda B., Richards A., Soriano E. The architecture of *Phaseolus vulgaris* root is altered when a defense response is elicited by an oligogalacturonide // Braz.J.Plant Physiol, 2006. – V.18. – P. 351-355.

Konno H., Yamasaki Y., Sugimoto M., Takeda K. Differential changes in cell wall matrix polysaccharides and glycoside-hydrolyzing enzymes in developing wheat seedlings differing in drought tolerance // J. of Plant Physiol, 2008. – V.165. – P. 745-754.

Laskowski M.J., Williams M.E., Nusbaum H.C., Sussex I.M. Formation of lateral root meristems is a two stage process // Development, 1995. – V. 121. - P. 3303–3310.

Leucci M.R., Lenucci M.S., Piro G., Dalessandro G. Water stress and cell wall polysaccharides in the apical root zone of wheat cultivars varying in drought tolerance // J. of Plant Physiol, 2008. – V.165. – P. 1168-1180.

Murashige T., Scoog F. A Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // Physiology Plantarum, 1962. - V.15. - P. 473-497.

Smet I.D., Tetsumura T., De Rybel B., Laplaze L., Casimiro I., Swarup T., Naudts M., Vanneste S., Audenaert D., Inzé D., Bennett M.J., Beeckman T. Auxin-dependent regulation of lateral root positioning in the basal meristem of *Arabidopsis* // Development, 2007. – V. 134. - P. 681-690.

Tran Than Van K., Toubart P., Cousson A. Manipulation of the morphogenetic pathways of tobacco explants by oligosaccharins // Nature, 1985. - V.314. - P.615-617.

Wu Y., Cosgrove D.J. Adaptation of roots to low water potentials by changes in cell wall extensibility and cell wall proteins // J. of Exp.Bot, 2000. – V.51. – P.1543-1553.

## **ДЫХАТЕЛЬНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ В КЛЕТКАХ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ САХАРНОГО ТРОСТНИКА *SACCHARUM OFFICINARUM* L. НА НАЧАЛЬНОЙ СТАДИИ АКТИВАЦИИ ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ, ВЫЗВАННОЙ ДЕЙСТВИЕМ ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ**

И.В. Любушкина<sup>1,2</sup>, О.И. Грабельных<sup>1,2</sup>, Т.П. Побежимова<sup>1</sup>,  
А.В. Федяева<sup>1</sup>, А.В. Степанов<sup>1</sup>, В.К. Войников<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, [estel\\_86@mail.ru](mailto:estel_86@mail.ru)

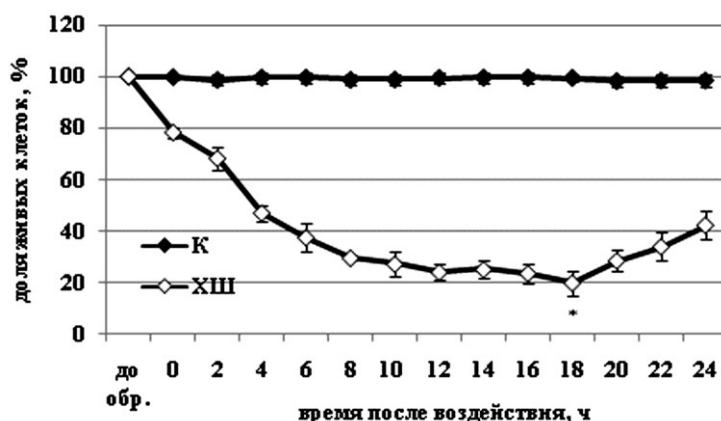
<sup>2</sup>Иркутский государственный университет, Иркутск, [estel\\_86@mail.ru](mailto:estel_86@mail.ru)

Изучение программируемой клеточной гибели (ПКГ) – процесса генетически контролируемой и упорядоченной деструкции клетки – у растений является одним из наиболее активно развивающихся в последние годы исследовательских направлений. Хотя в данной области достигнуты большие успехи, тем не менее, роль митохондрий в процессах регуляции и реализации ПКГ у растений как на определенных этапах онтогенеза, так и при действии различных факторов внешней среды, является до конца не выясненной. В связи с этим, целью данной работы явилось изучение возможности инициации гибели клеток в суспензионной культуре сахарного тростника при действии отрицательной температуры (- 8 °С, 2 ч) и выявление изменений функциональной активности митохондрий на начальном этапе активации процесса клеточной гибели.

Работа проводилась на суспензионной культуре сахарного тростника *Saccharum officinarum* (сорт РОJ2878, линия, устойчивая к аноксии). Кратковременное воздействие

отрицательной температуры (- 8 °С, 2 ч) осуществляли на 8-е сутки культивирования. Микроскопический анализ клеток проводили с помощью инвертированного флюоресцентного микроскопа AxioObserverZ1 («CarlZeiss», Германия) с цифровой монохромной камерой AxioCamMRm3 и пакетом программного обеспечения для захвата и анализа изображений «AxioVisionRel.4.6». Жизнеспособность клеток культуры определяли с помощью двойного окрашивания флюоресцентными красителями: витальным красителем FDA (флюоресцеиндиацетат, конечная концентрация 50 мкМ) и летальным красителем PI (пропидий йодид, конечная концентрация 7 мкМ) [Koukalová et al., 1997]. Для изучения содержания активных форм кислорода (АФК) в клетках использовался H<sub>2</sub>DCF-DA (2,7-дихлородигидрофлюоресцеин диацетат, 1 мкМ) [Maxwell et al., 1999], а изменения трансмембранного электрохимического потенциала на внутренней митохондриальной мембране ( $\Delta\Psi_m$ ) регистрировались с помощью потенциал-зависимого катионного красителя JC-1 (5,5',6,6'-тетрахлор-1,1',2,2'-тетраэтилбензимидазолкарбоцианин, 20 мкМ) [Simeonova et al., 2004]. Определение скорости поглощения кислорода клетками проводили на полярографе ОН-105 («Radelkis», Венгрия) при 26 °С. Для проведения иммуноблоттинга использовались первичные антитела против цитохромас («Биосан», Россия), сукцинатдегидрогеназы (SDH1-1 субъединица, от K.Peters, Leibniz Universität Hannover, Germany) и порина (от T.E. Elthon, University of Nebraska Lincoln, USA).

Изучение действия отрицательной температуры (- 8 °С, 2 ч) на жизнеспособность клеток в культуре показало, что в течение 16 ч после действия температуры погибало около 80% клеток, при этом наиболее интенсивно процесс гибели протекал в течение первых 8-ми часов после воздействия (Рис. 1). Таким образом, наблюдавшийся в культуре процесс гибели клеток был длительным и развивался после прекращения действия стрессового фактора, т.е. имел активный характер.

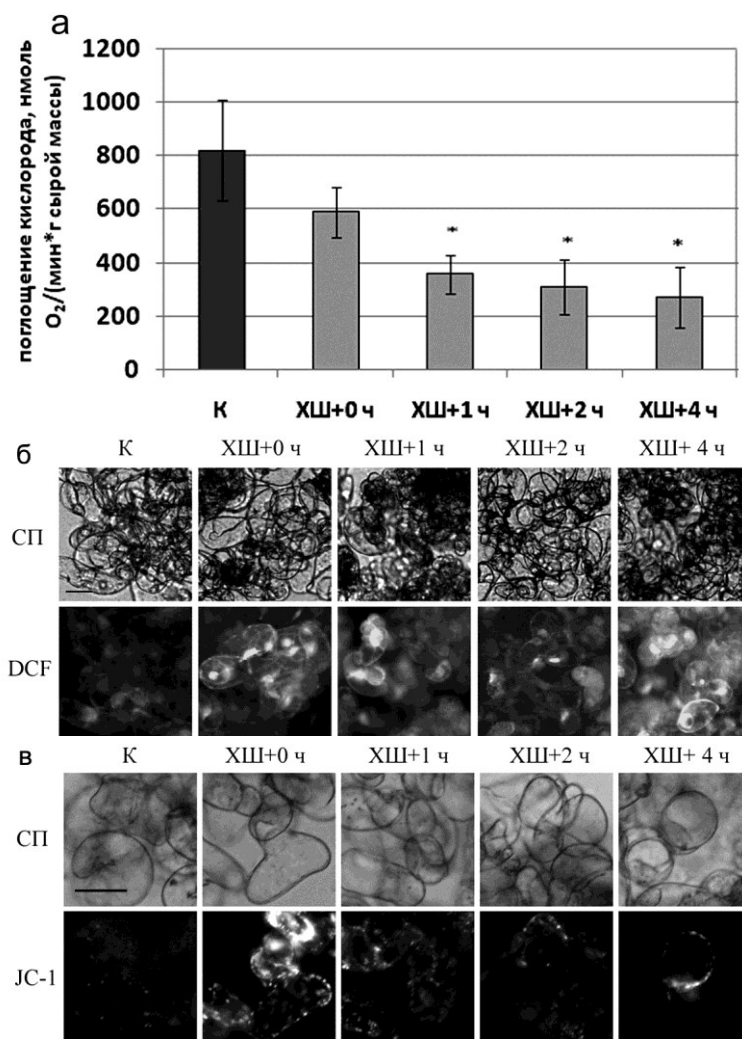


**Рис. 1.** Динамика гибели клеток суспензионной культуры сахарного тростника после действия отрицательной температуры.

**Обозначения:** К - контрольная культура клеток, выращенная при температуре 26 °С; ХШ - кратковременное воздействие отрицательной температурой, холодовой шок, -8 °С, 2 ч. n=3. M±S.D. \* - различия достоверны при уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

Основным источником энергии в гетеротрофной культуре клеток является процесс дыхания [Braseta et al., 2005]. В связи с этим, ранние события, предшествующие активации ПКГ, такие как изменения содержания АФК и трансмембранного электрохимического потенциала ( $\Delta\Psi_m$ ) [Amirsadeghi et al., 2006], в суспензионной культуре растений обусловлены, главным образом, изменениями в функционировании электрон-транспортной цепи митохондрий. Изучение интенсивности дыхания клеток суспензионной культуры сахарного тростника показало, что на протяжении 4-х часов после воз-

действия отрицательной температурой интенсивность дыхания снижалась более чем в 2 раза (Рис. 2а). При этом активации альтернативного, цианид-резистентного пути дыхания (АП) не происходило: в контрольной культуре сахарного тростника вклад АП в дыхание составлял около 40%, в то время как после действия отрицательной температуры доля АП в дыхании клеток сахарного тростника снижалась примерно до 25%. Функционирование АП в клетках растений может играть роль механизма, препятствующего образованию АФК [Liao et al., 2012]. Следует отметить, что при исследуемом типе воздействия активации данного защитного механизма не происходило, что могло быть вызвано повышенной чувствительностью суспензионной культуры сахарного тростника к отрицательной температуре.



**Рис. 2.** Изменения интенсивности дыхания (а), содержания активных форм кислорода (б) и электрохимического потенциала на внутренней митохондриальной мембране (в) в клетках суспензионной культуры сахарного тростника после действия отрицательной температуры.

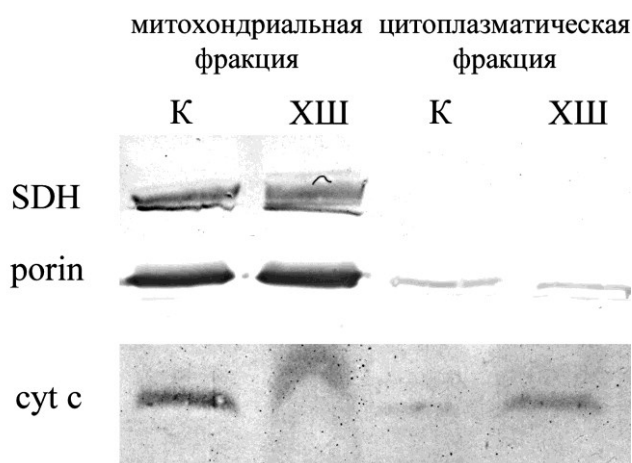
**Обозначения:** К - контрольная культура клеток, выращенная при температуре 26 °С; ХШ - кратковременное воздействие отрицательной температурой, холодовой шок, -8 °С, 2 ч; 0, 1, 2 и 4 ч - время после действия отрицательной температуры; СП – светлое поле; DCF – флюоресценция дихлорфлюоресцеина в зеленом канале; JC-1 – флюоресценция JC-1 в красном канале. n=3-5. M±S.D. \* - различия достоверны при уровне значимости p≤0,05.

Известно, что биотические или абиотические стрессоры могут увеличивать уровень АФК в клетках растений вследствие нарушения митохондриального метаболизма

[Apel and Hirt, 2004]. Изучение содержания АФК в клетках культуры сахарного тростника показало, что обработка температурой - 8 °С в течение 2-х часов приводила к значительному повышению данного параметра, которое сохранялось в течение 4-х часов после обработки (Рис. 2б). Наряду с повышением уровня АФК, действие отрицательной температуры приводило к кратковременной гиперполяризации внутренней мембраны митохондрий, которая постепенно снижалась в течение 4-х часов после воздействия, в тот же период, когда снижалась интенсивность дыхания (Рис. 2в).

Наблюдавшиеся в работе изменения в функциональной активности митохондрий, а именно - снижение интенсивности дыхания и  $\Delta\Psi_m$  могли быть обусловлены нарушением транспорта электронов по дыхательной цепи, вызванным АФК-зависимым выходом цитохрома *c* из митохондрий в цитоплазму [Vacca et al., 2006]. Изучение локализации цитохрома *c* в клетках культуры сахарного тростника показало, что уже через 4 ч после действия - 8 °С содержание цитохрома *c* уменьшалось в митохондриальной и увеличивалось в цитоплазматической фракции (Рис. 3).

Таким образом, можно заключить, что ранняя стадия процесса гибели клеток культуры сахарного тростника при действии отрицательной температуры, в значительной степени обусловлена нарушениями функциональной активности митохондрий - снижением интенсивности дыхания и трансмембранного потенциала на внутренней мембране, увеличением содержания АФК в клетках и выходом цитохрома *c* из митохондрий.



**Рис. 3.** Изменение локализации цитохрома *c* в клетках суспензионной культуры сахарного тростника после действия отрицательной температуры.

**Обозначения:** К - контрольная культура клеток; XIII - воздействие отрицательной температурой, -8 °С, 2 ч; SDH – сукцинатдегидрогеназа; porin – порин; cyt c – цитохром *c*.

*Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 8266.*

#### Литература

Amirsadeghi S., Robson C.A., Vanlerberghe G.C. The role of the mitochondrion in plant responses to biotic stress // *Physiol. Plant.*, 2007. – V.129. – P.253-266.

Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2004. – V.55. – P.373-99.

Bras M., Queenan B., Susin S.A. Programmed cell death via mitochondria: different modes of dying // *Biochem.*, 2005. – V.70. – P.231-239.

Koukalová B., Kovařík A., Fajkus J., Šíroký J. Chromatin fragmentation associated with apoptotic changes in tobacco cells exposed to cold stress // *FEBS Lett.*, 1997. – V.414. –

P.289-292.

Liao Y.-W.-K., Shi K., Fu L.-J., Zhang S., Li X., Dong D.-K., Jiang Y.-P., Zhou Y.-H., Xia X.-J., Liang W.-S., Yu J.-Q. The reduction of reactive oxygen species formation by mitochondrial alternative respiration in tomato basal defense against TMV infection // *Planta*, 2012. – V.235. – P.225-238.

Maxwell D.P., Wang Y., McIntosh L. The alternative oxidase lowers mitochondrial reactive oxygen production in plant cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999. – V.96. – P.8271-8276.

Simeonova E., Garstka M., Koziół-Lipińska J., Mostowska A. Monitoring the mitochondrial transmembrane potential with the JC-1 fluorochrome in programmed cell death during mesophyll leaf senescence // *Protoplasma*, 2004. – V.223. – P.143-153.

Vacca R.A., Valenti D., Bobba A., Merafina R.S., Passarella S., Marra E. Cytochrome *c* is released in a reactive oxygen species-dependent manner and is degraded via caspase-like proteases in tobacco Bright-Yellow 2 cells en route to heat shock-induced cell death // *Plant Physiol.*, 2006. – V.141. – P.208-219.

## **РОЛЬ НЕГАТИВНЫХ АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ АРОМАТИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ В НАЧАЛЕ ФОРМИРОВАНИЯ БОБОВО- РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА В НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ СРЕДЫ**

Л.Е. Макарова

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, makarova@sifibr.irk.ru

Формирование бобово-ризобиального симбиоза представляет собой цепь морфофизиологических процессов у обоих симбионтов и успешность его прохождения уже на начальных этапах зависит от внешних условий.

Триггерами симбиотических взаимодействий являются специфические фенольные соединения (ФС), синтезируемые растением-хозяином. Они выступают в качестве сигнальных молекул со стороны растения и способствуют активизации микросимбионта: вызывают хемотаксис ризобий, их размножение в ризосфере и ризоплане, экспрессию у них *nod*- генов. Участие ФС в регуляции концентрации ризобий в ризосфере бобового растения, предопределяют уровень инфицирования и имеют отношение к ауторегуляции нодуляции его корней [Макарова, 2012].

Влиять на концентрацию ризобий в почве могут вещества негативного действия на микрофлору. У бобовых растений среди экскретируемых ими во внешнюю среду соединений функцию ростовых ингибиторов могут выполнять фитоалексины изофлавоноидного происхождения, которые различаются по структуре у разных видов бобовых растений [Макарова, 2012]. Однако у ризобий чувствительность на действие фитоалексинов того вида бобового растения, с которым он способен вступать в симбиоз, похоже, отсутствует [Novak, 1989]. Подавление роста этих бактерий вызывали представители других классов ароматических соединений, в частности, N-фенил-2-нафтиламин, который в корневых экссудатах гороха (*Pisum sativum* L.), сои (*Glycine max* L. Merr.) и бобов (*Vicia faba* L. var. *major* Hartz) оказался в числе мажорных компонентов среди липофильных веществ, выделяемых корневыми клетками в ризосферу [Макарова и др., 2012]. В литературе N-фенил-2-нафтиламин известен как негативное аллелопатическое вещество, подавляющее микрофлору [Wu et al., 2007]. Вероятно, его количество в составе корневых экссудатов имеет определяющее значение для ограничения концентрации микросимбионта в ризосфере растения в изменяющихся условиях среды и имеет отношение к механизмам ауторегуляции симбиотических бобово-ризобиальных отно-

шений.

В настоящем сообщении представлены количественные показатели секреции N-фенил-2-нафтиламина корнями проростков гороха (рис.), которые при сопоставлении с содержанием в экссудатах фенольных соединений (ФС) и их активности в размножении ризобий доказывают возможность участия этого вещества в регуляции концентрации ризобий в ризосфере растения-хозяина в зависимости от условий для его роста.

В качестве действующих на растение неблагоприятных факторов в наших исследованиях были пониженная температура и отсутствие освещения, которые по-разному влияют на рост и развитие растений гороха и негативно, но неоднозначно на процесс формирования их симбиоза с *Rhizobium* [Макарова и др., 2004]. Исходным растительным материалом служили 2-сут этиолированные проростки гороха (сорт Ямальский), выросшие в термостате при 22 или 9 °С без освещения. Для дальнейшего роста их помещали на водную среду, содержащую микроэлементы, и создавали соответствующие задачам экспериментов неблагоприятные условия среды. В варианте с пониженной температурой рост исходных проростков и затем, с момента помещения растений на водную среду, происходил при 9 °С в камере с освещением 81  $\mu\text{M}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{сек}^{-1}$  и 13-ч фотопериодом проводили. В варианте без света рост исходных проростков и помещаемых на водную среду проходил в термостате с температурой 22 °С. Данные обоих вариантов сравнивали с данными для растений, выращенных в камере фитотрона с температурой  $21\pm 1$  °С, влажностью воздуха около 60%, освещением 80  $\mu\text{M}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{сек}^{-1}$  при 13-ч фотопериоде.

Наиболее заметное снижение эксудации ФС происходило у растений, испытывавших действие пониженной температуры, менее сказывалось отсутствие света, которое к тому же способствовало повышенной секреции N-фенил-2-нафтиламина (рис.). Показатели количества секретируемых растениями гороха ФС, их ростовой активности и содержания в экссудатах N-фенил-2-нафтиламина изменялись и после инокуляции ризобиями.

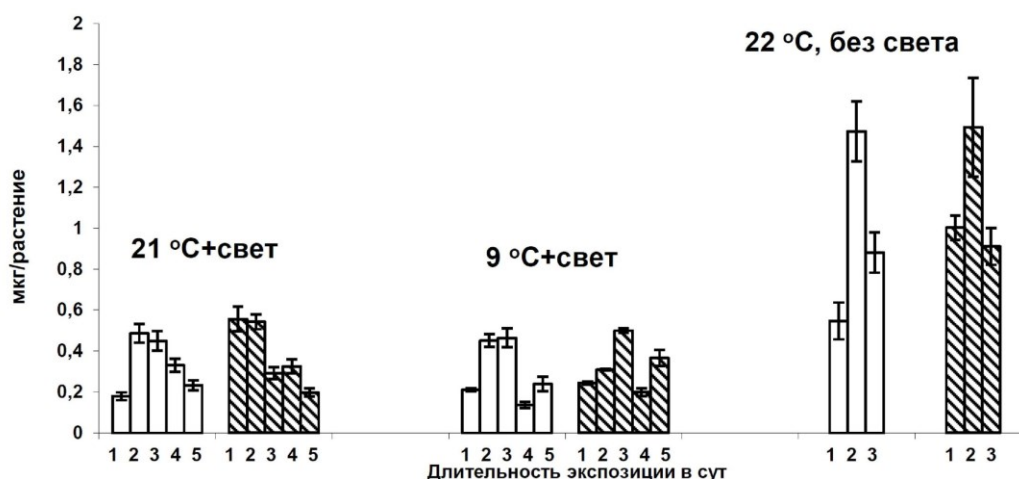


Рис. Влияние температуры и света на количество N-фенил-2-нафтиламина, выделяемого их корнями гороха в ризосферу.

Обозначения: По оси ординат указано количество N-фенил-2-нафтиламина, выделяемого корнями 1 растения за 1 сут (незаштрихованными и заштрихованными столбцами показаны данные, соответственно, для неинокулированных и инокулированных *Rhizobium* растений гороха).

На вопрос, как отражается на ростовой активности в отношении ризобий всего

комплекса фенольных соединений, представленного в корневых экссудатах, возрастание в их составе содержания N-фенил-2-нафтиламина, способного подавлять рост микрофлоры, позволили ответить подсчитанные нами коэффициенты корреляции для показателей ростовой активности выделяемых корнями фенольных соединений и количества входящего в их состав N-фенил-2-нафтиламина. Значения коэффициентов для инокулированных и неинокулированных ризобиями растений, росших на свету, при пониженной температуре и для неинокулированных растений при оптимальной температуре свидетельствуют о высокой степени отрицательной зависимости между указанными выше показателями. Аналогичная зависимость между ними обнаружена и у растений гороха, росших в темноте при 22 °С. Но примечательно то, что практически отсутствует указанная зависимость у инокулированных растений, росших на свету при 21 °С. Возможно, в этих, благоприятных для симбиоза условиях, отсутствие зависимости ростовой активности выделяемых корнями ФС от содержания в их составе N-фенил-2-нафтиламина обуславливают компоненты положительного действия на размножение ризобий. В научной литературе прямые подтверждения высказанному предположению в настоящее время отсутствуют. Приводятся только факты, указывающие на появление в ризосфере корней в ответ на инокуляцию ризобиями отдельных ФС, оказывающих стимулирующее влияние на экспрессию *nod*-генов указанных бактерий [Макарова, 2012].

Можно допустить существование ситуаций, когда корни не выделяют в ризосферу достаточного количества фенольных соединений стимулирующего действия на рост ризобий, то есть, выступающих в качестве антагонистов ростовым ингибиторам, подобным N-фенил-2-нафтилмину. В таком случае существование выраженной отрицательной зависимости между содержанием N-фенил-2-нафтиламина и исследуемой ростовой активностью фенольных комплексов в экссудатах может объясняться низкой долей в их составе стимуляторов размножения ризобий. Следовательно, N-фенил-2-нафтиламин вследствие его негативного аллелопатического действия и как один из доминирующих по массе компонентов в комплексе фенольных соединений корневых экссудатов бобовых растений, может иметь регуляторную функцию при контроле со стороны растения-хозяина концентрации микросимбионта в ризосфере в связи с изменяющимися условиями среды.

#### Литература

Макарова Л.Е. Физиологическое значение фенольных соединений при формировании бобово-ризобиального симбиоза на этапе преинфекции // ВХНАУ, 2012. - Вып. 2(26). - С. 25-40.

Макарова Л.Е., Смирнов В.И., Клыба Л.В., Петрова И.Г., Дударева Л.В. Роль аллелопатических соединений в регуляции формирования бобово-ризобиального симбиоза // ПБМ. 2012. Т. 48. № 4. С.394-402.

Макарова Л.Е., Соколова М.Г., Акимова Г.П., Лузова Г.Б., Нурминский В.Н. Инфицирование и нодуляция этиолированных растений гороха, инокулированных *Rhizobium leguminosarum* // Агрехимия.- № 12, с. 29-35.

Novak K. Production of phytoalexin in pea roots // Interrelationships between Microorganisms and Plants in Soil. Czechoslovakia, 1987 / Prague: Academia, 1989. -P. 63-66.

Wu Z.B., Zhang S.H., Wu X.H., Cheng S.P., He F. Allelopathic interactions between *Potamogeton maackia* and *Microcystis aeruginosa* // Allelopathy Journal, 2007.- V. 20, № 2.- P. 327-338.



## РЕАКЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО ОРГАНИЗМА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СТЕРОИДНЫМИ ГЛИКОЗИДАМИ

С.Ю. Максимовских

РЦ СГЭКиМ по Курганской области, Курган, mak-su@bk.ru

Интенсивное земледелие XX века при усиленном применении химических средств защиты и повышения продуктивности растений привело к значительному загрязнению окружающей среды. И вместе с тем потери урожая от вредных организмов не только не уменьшились, но в ряде случаев возросли. Так в конце XX века ежегодно удавалось сохранять продукции на сумму 160 млрд. долларов, то потери оцениваются суммой в 244 млрд. долларов [Балашова, 2004]. Существенным недостатком химических пестицидов является их малая эффективность в защите растений от абиотических стрессов. Защита от стрессов особенно актуальна для нашей страны, где погодные условия определяют урожайность до 60%. Назрел кризис, где повышение продуктивности растений за счет широкой химизации и внедрения новых сортов не дает значительной прибавки урожайности сельскохозяйственных культур. Необходимо усиления экологической направленности технологий выращивания с целью повышения адаптивных возможностей самих растений. Одним из перспективных направлений является повышение неспецифической устойчивости к фитопатогенам и неблагоприятным факторам внешней среды с помощью биопрепаратов [Шуканов, 2012]. Благодаря биогенному происхождению и низким концентрациям действующих веществ данная группа препаратов относится к экологически безопасным средствам. Они также отличаются низкой токсичностью и стоимостью, широким спектром действия в отношении различных организмов и стрессовых факторов.

Одними из таких веществ являются препараты группы стероидные гликозиды (ряда спиростана и фуростана), которые являются вторичными метаболитами в растительной клетке, участвуют в гормональной регуляции организма, повышая устойчивость и выносливость к стрессовым факторам среды и фитопатогенам [Кинтя, 1987].

Стероидные гликозиды являются высокоактивными соединениями, что связано с сочетанием в одной молекуле двух частей - стероидной и углеводной. Изучение антибактериального и фунгицидного действия стероидных гликозидов позволяет предположить, что их токсическое действие связано со способностью к комплексообразованию не только со стеринами мембран, но и с другими мембранными компонентами, такими как белки и фосфолипиды. Результатом взаимодействия может быть деструкция клеточной мембраны и увеличение ионной проницаемости. Кроме того была отмечена способность стероидных гликозидов спиростанолового ряда воздействовать на АТФ-азную активность митохондриальных мембран, вызывая нарушение процессов окислительного фосфорилирования митохондрий. [Васильева, 2000].

Объектами нашего исследования были различные биотипы сельскохозяйственных культур: *Medicago sativa*, *Triticum aestivum*, *Hordeum sativum*, *Zea mays*, *Solanum tuberosum*. Нам были исследованы концентрации, способы и сроки применения препаратов – пурпуреагитозид, никотианозид, капсикозид, томатозид и туберозид, которые сравнивали с оксигуматом, гибберилином и химическими регуляторами.

Препараты представляет собой порошкообразное вещество различных оттенков от коричневого до белого цвета, устойчивы к действию света, гигроскопичны, хорошо растворимы в воде. Площадь опытной делянки в зависимости от культуры и сорта от 7 до 25 м<sup>2</sup>. Повторность четырехкратная, размещение сортов - систематическое, вариантов опыта - случайное. Учет и наблюдения проведены по стандартным методикам государственного сортоиспытания. Биохимические исследования качественного и количе-

ственного анализа проведены после уборки урожая. Математическая обработка данных проведена с применением методов вариационной статистики, дисперсионного анализа, корреляции и регрессии [Доспехов,1973].

В результате испытаний препаратов группы стероидные гликозиды на сельскохозяйственных культурах наибольшая эффективность получена при обработке капсикозидом. На картофеле, применение капсикозида в 0,01% растворе, позволяет увеличить общую площадь листовой поверхности на 39 % (одновременно повышает количество листьев на кусте и их массу), уменьшая высоту растений на 13% и количество стеблей в кусте на 19%. Все это формирует оптимальную густоту посадки и габитус растения, повышает продуктивность фотосинтеза на 38 %. Наряду со стимулирующим действием, регулятор капсикозид проявляет защитный эффект, включает иммунные реакции растительного организма. Применение капсикозида способствует снижению поражения листовой поверхности и клубней картофеля в борьбе с такими возбудителями заболеваний как *Phytophthora infestans (Mont.) de Bary* на 48% и *Streptomyces scabies LetL* на 36-69 %. Применение капсикозида по вегетирующим растениям картофеля в фазу бутонизации дает прибавку урожая клубней от 7 до 13,6 т/га.

На кукурузе обработка капсикозидом 0,1 г/т достоверно повышает полевую всхожесть семян, увеличивает продуктивность зеленой массы на 20%, сухой массы на 12% и урожай початков на 1,8 т/га.

Предпосевное применение капсикозида на яровых зерновых - пшенице мягкой и ячмене яровом повышает устойчивость этих культур к неблагоприятным абиотическим факторам среды. Препараты группы стероидные гликозиды положительно действуют в баковых смесях с фунгицидами и гербицидами, смягчают отрицательные последствия применения пестицидов. Все это позволяет получить дополнительной продукции на пшенице -0,3т/га, на ячмене-0,2т/га.

Обработка капсикозидом 0,5 г/га люцерны посевной позволяет получить дополнительно на 20% зеленой массы, и 40 % сухого вещества.Повышает на 33 % семенную продуктивность культуры - количество и массу 1000 семян.

Стимуляция роста и фитоиммунитета растений стероидными гликозидами позволяет рассматривать эти соединения как природные адаптогены. В результате обработки семян растворами стероидных гликозидов значительно повышается их всхожесть, скорость прорастания, адаптация растений к стрессовым условиям окружающей среды и устойчивость к болезням. Способности данных соединений в очень малых концентрациях ( $10^{-6} \dots 10^{-7}$ ) стимулировать и повышать устойчивость к стрессовым условиям произрастания, не накапливаясь в почве и продукции и в конечном итоге увеличивать продуктивность, характеризуют их как экологически безопасные регуляторы роста и развития растений.

#### Литература

Балашова Н.Н., Жученко А.А., Пивоваров В.Ф. и др. Регуляция устойчивости фитопатосистем с помощью вторичных метаболитов растений// Сельскохозяйственная биология,2004.-№1.-С.3-14.

Васильева И.С., Пасешниченко В.А. Стероидные гликозиды растений и культуры клеток диоскореи, их метаболизм и биологическая активность// Успехи биологической химии,2000.-т.40.-С.153-204.

Доспехов Б.А. Методика опытного дела. - М.: Колос, 1973. -336с.

Кинтя П.К., Лазурьевский Г.В., Балашова Н.Н., Балашова И.Т., Суружиу А.И., Лях В.А. Строение и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фуростана.- Кишинев: «Штиинца», 1987. -С.70-74.

Шуканов В.П., Вольнец А.П., Полянская С.Н. Гормональная активность стероидных гликозидов растений.- Минск: «Белорусская наука»,2012.- 244с.

## МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ ЛИСТЬЕВ ПЕРСИКА СОРТА КОЛЛИНС К СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ ПРИРОДНОГО ХАРАКТЕРА

Р.Б. Малина, Г.В. Шишкану, Н.В. Титова

Институт генетики и физиологии растений АН Республики Молдова, Кишинев, malinaraya@mail.ru

Многолетние растения обладают широким спектром приспособительных реакций для долговременного существования в определенной климатической зоне. Сбалансированная система донорно-акцепторных связей на разных уровнях структурной организации позволяет растению уходить от стресса или минимизировать его воздействие. Известно, что погодные условия оказывают непосредственное влияние на морфо-физиологическое состояние листьев и фотосинтетическую продуктивность растений [Иванов,2008; Климов, 2008; Кубарев,2009].

Исследование реакции листьев на стрессовые условия проводили на плодоносящих деревьях персика сорта Коллинс, произрастающих в лизиметрах, возраст растений 5-7 лет. Водный режим поддерживался регулярным поливом, удобрения вносили весной по общепринятым нормам. Температура и влажность воздуха, испаряемость с поверхности листа оставались нерегулируемыми факторами среды обитания. В течение трех лет (2010-2012гг.) изучали морфо-физиологические параметры листьев, фотосинтетическую и хозяйственную продуктивность растений персика, количественный и качественный состав пигментов на спектрофотометре СФ Т60 U, удельную поверхностную площадь листьев (УППЛ). Степень выраженности засухи рассчитывали по индексу аридности де Мортонна  $I = P/(T+10)$ , где P- среднегодовое количество осадков, T- среднегодовая температура. Минимальное значение индекса соответствует максимальной аридности года [Иванов,2008]. Испаряемость, которая связывает температуру и влажность воздуха, рассчитывали по формуле Н.Н.Иванова [Хаустович,2012].

Метеорологические условия последовательных трех лет характеризовались усилением аридности климата, ежегодным повышением температуры, снижением влажности воздуха и значительным ростом испаряемости летом. Год 2011 был наиболее близок климатическим условиям Молдовы, индекс аридности составил 28,5. В 2012 году высокая температура в мае-июле (31-39<sup>0</sup>С), минимальное количество осадков весной и летом, пониженная влажность воздуха создали стрессовые условия для растениеводства страны. Сельскохозяйственные посевы и травостой высохли, не завершив развития. В таблице 1 приведены некоторые сравнительные параметры условий года.

Таблица 1

Сводная таблица метеорологических условий проведения опыта

Параметры	2010 год	2011 год	2012 год	Среднее много- летнее
Осадки, мм в год	655	599	378	526
Температура, <sup>0</sup> С сред- негодовая	10,9	11,0	11,1	9,5
Влажность воздуха,%	73 Летом - 64	71 61	65 49	71 63
Индекс аридности	31,3	28,5	17,9	24,7
Испаряемость (лето)	450	456	660	420

Как известно, плодovому дереву, чтобы органично вписаться в окружающую среду, необходимо чутко реагировать на все изменения природных факторов. Наиболее чувствительным органом является листовая пластинка, которая меняет свои размеры,

толщину и плотность в зависимости от условий существования. У листьев персика, выращенных в лизиметрах, несмотря на достаточное количество влаги в почве, выявлено уменьшение длины и ширины, а также площади листа примерно на 10-20% в соответствии с увеличением испаряемости по годам. Сухая масса отдельного листа при этом менялась незначительно. Показатели УППЛ повышались в среднем на 20-24% с ростом температуры и усилением воздушной засухи в летний период в разные годы. Данные за три года приведены в таблице 2. Сравнивали развитые листья, расположенные в средней части однолетнего побега в одинаковые сроки вегетации (табл.2).

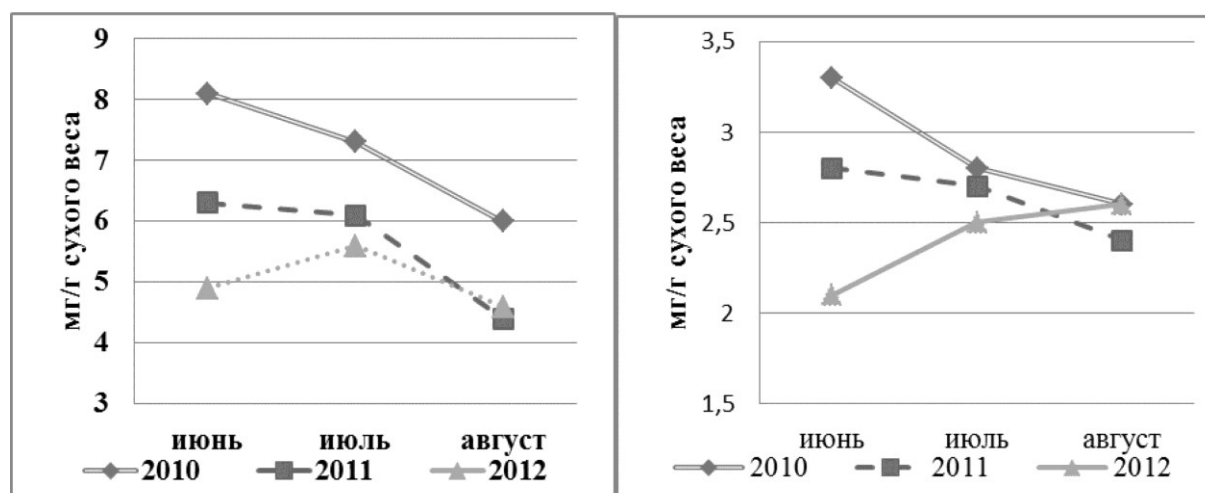
Отмечено, что такие изменения листовой пластинки носят видонеспецифичный характер, встречаются как у многолетних, так и однолетних культур при засухе. Подобную реакцию листьев приводит Л.А. Иванов, исследуя смену видового состава в

**Таблица 2**

**Параметры листовой пластинки персика сорта Коллинс**

	Длина, см	Ширина, см	Площадь, см <sup>2</sup>	Сухая масса, г	УППЛ, г/дм <sup>2</sup>
2010г	17,2	3,9	52,0	0,38	0,52
2011г	16,2	3,5	47,1	0,37	0,57
2012г	15,3	3,7	44,7	0,34	0,67

широтном направлении от лесостепи к опустыненной зоне [Иванов, 2008]. При усилении стресса внутренняя структура уплотняется и занимает меньший объем по сравнению с листьями, выращенными в благоприятных условиях. Реакция на уровне структурной единицы (листа) компенсируется на уровне целого растения: увеличилось количество листьев, стала больше общая масса и суммарная площадь листьев дерева. Выявлены изменения в содержании пигментов пластид. Так как хлоропласт, помимо функции преобразования световой энергии, выполняет функции сенсора внешних сигналов, то любые изменения среды отражаются на его состоянии (Рис.1).



**Сумма хлорофиллов а+б Каротиноиды**

**Рисунок 1. Динамика содержания хлорофиллов а+б и каротиноидов в течение вегетации при повышении температуры и усилении воздушной засухи.**

В фазе интенсивного роста однолетних побегов (июнь) видна четкая и определенная разница по содержанию хлорофиллов и каротиноидов по годам при нарастании температуры и воздушной засухи. В благоприятные годы количество пигментов к концу вегетации плавно снижается. В экстремальных условиях, в период налива плодов и

увеличении потребности в ассимилятах, количество хлорофилла возрастало, что по всей вероятности, продиктовано запросом аттрагирующих центров. Таким способом поддерживался необходимый запас пигментов для реализации программы урожая. Особенно отличался характер кривой содержания каротиноидов, которая в засушливый период возрастала. Это связано, вероятно, с протекторной функцией каротиноидов по защите пигментного комплекса от фотоокисления.

Абсолютные показатели накопления биомассы годовичного прироста менялись под влиянием внешних факторов, но относительная величина ПЛ, как отношение вегетативной массы к единице массы листьев, была стабильной в разные годы по всем растениям. Продуктивность листьев (ПЛ) может служить индикаторным показателем устойчивой работы листового аппарата, отражает сортовые признаки, возможно, генетически детерминирован. ПЛ для сорта Коллинс установлена как 1,4.

Таким образом, установлено, что у персика отдельные органы: листья, плоды, элементы мезоструктуры меняют свою площадь и объем согласно изменившимся условиям среды. Адаптация на уровне целого растения компенсирует эти нарушения. Увеличивается количество листьев, возрастает их масса, меняется внутренняя организация и биохимическая активность, что позволяет поддерживать фотосинтетическую продуктивность на соответствующем уровне. Показатель ПЛ можно использовать как индикатор устойчивой работы единицы листа в разных погодных условиях.

#### Литература

Иванов Л.А., Ронжина Д.А., Иванова Л.А. Изменение листовых параметров как показатель смены функциональных типов степных растений вдоль градиента аридности // Физиология растений, 2008.- т.55.- №3 – С.332-339.

Климов С.В. Адаптация растений к стрессам через изменение донорно-акцепторных отношений на разных уровнях структурной организации // Успехи современной биологии, 2008.- т.128.- №3 – С.281-299.

Кубарев Н.И. Всепогодная технология растениеводства в связи с изменением климата и принципом устойчивого развития // I Conferinta Internationala, Moldova, Chishinau, 11-12 noembrie 2009.-P.227-229.

Хаустович И.П., Пугачев Г.Н. Совершенствование методов изучения погоды и зимостойкости растений в изменившихся климатических условиях. // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук, 2012, - №4 – С.8-11.

## **ВЛИЯНИЕ СПЕКТРАЛЬНОГО СВЕТА НА РЕГУЛЯЦИЮ УСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ АРАБИДОПСИСА ПРИ ХЛОРИДНОМ ЗАСОЛЕНИИ**

А.В. Мануйлова, М.К. Малофий, М.В. Ефимова

Национальный исследовательский Томский государственный университет,  
Томск, arinamanuylova@gmail.com

Ежегодно на 1-2 % сокращается количество орошаемых земель на всей планете. По данным Всемирной организации продовольствия и сельского хозяйства ООН, общая площадь засоленных территорий в мире превышает 800 миллионов гектаров [FAO, URL: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>]. Причины засоления почв различны: начальное засоление материнской породы, использование соленой воды в аграрном производстве, низкий уровень осадков и высокая интенсивность испарения [Shahid, 2011]. Засоление почв приводит к снижению продуктивности агро- и биоценозов, падению биоразнообразия и, как следствие этого, к значительным экономическим потерям [Kho-

Iodova, 2010; Гринин, 2010]. Изучение механизмов устойчивости растений к повреждающему действию абиотических факторов имеет важное значение для сохранения продуктивности агроценозов. Решение данной проблемы имеет принципиальное значение для понимания стратегии выживания растений в экстремальных условиях, прежде всего в условиях интенсивного засоления, и разработки технологии защиты растений от повреждающего действия неблагоприятных факторов среды [Kuznetsov, 2010; Ефимова, 2012].

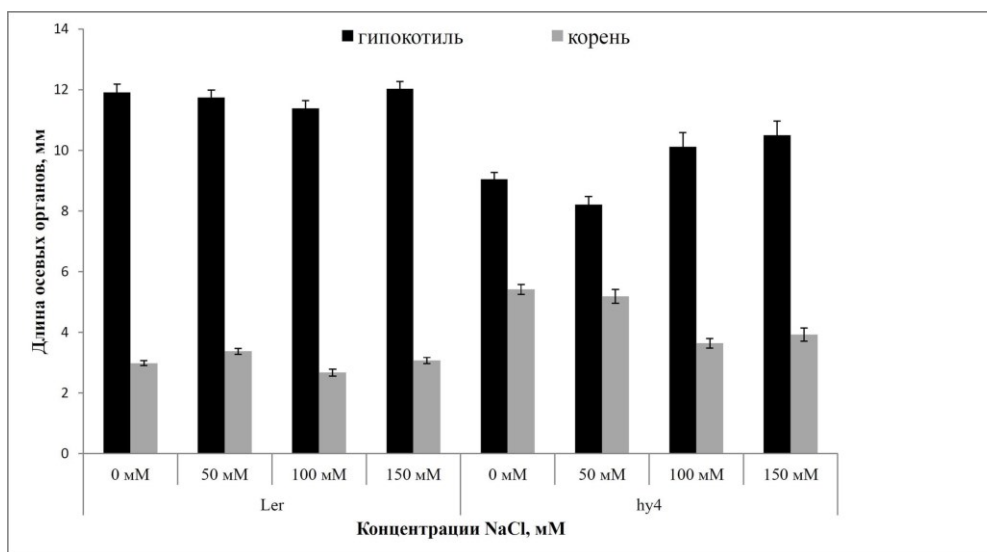
Известно, что свет является одним из наиболее важных факторов внешней среды, который контролирует развитие растений. Его регуляторное действие растение испытывает уже на начальных этапах онтогенеза - при переходе молодых проростков от скотоморфогенеза к фотоморфогенезу. За восприятие света разного спектрального состава и интенсивности отвечают фоторецепторы. Посредством хромофорной группы энергия фотонов света, падающего на фоторецептор, передается его белковой части, в результате чего запускаются сложные биохимические процессы, обуславливающие сигнальную функцию света [Quail, 1991]. На данный момент не накоплено достаточно информации о вкладе спектрального состава света в формирование механизмов устойчивости растений к абиотическим стрессорам. В связи с этим перед нами была поставлена задача выяснить, в каких условиях проростки лучше переносят засоление – в темноте или на синем свете, и как проявляется ответная реакция растений на засоление в зависимости от спектрального состава света.

В качестве объекта исследований использовали растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. дикого типа *Ler* и мутанта *hy4* с нарушением синтеза основного фоторецептора синего света – криптохрома 1. В ходе исследований изучено действие различных концентраций NaCl (от 50 до 150 мМ) на прорастание и морфогенез проростков арабидопсис в темноте и на синем свете. В качестве контроля использовали 7-суточные этиолированные проростки, выращенные на дистиллированной воде. Ростовые показатели проростков (длина гипокотилия и корня) анализировали на 7-е сутки после прорастания в условиях засоления под лупой БМ-51-2 (КОМЗ, Россия). Эксперименты проводили не менее трех раз.

Нами показано, что проростки родительской линии *Ler* проявили высокую устойчивость к действию хлорида натрия вне зависимости от его концентрации, в то время как мутантная линия характеризуется снижением интенсивности роста гипокотилия при слабом засолении (50 мМ) и корня при высоких концентрациях NaCl (100 и 150 мМ) (рисунок 1). Подобные различия в степени устойчивости проростков *Arabidopsis* родительской и мутантной линии к засолению в темноте, вероятно, обусловлены тем, что белок криптохрома 1 может быть вовлечен в формирование механизмов адаптации растений к действию NaCl. Известно, что присутствие фоторецепторов в растениях не зависит от наличия света. Доказано наличие фитохромов и криптохромов в корнях; накапливается информация о физиологической роли фоторецепторов в развитии подземных органов [Costigan, 2011]. В настоящее время известно, что фитохром изменяет чувствительность корней растений к жасмоновой кислоте; гормону, определяющему реакцию растений на стресс [Costigan, 2011]. Возможно, криптохромы определяют чувствительность растений к гормонам, выполняющим защитную роль при действии стрессовых факторов, что и может приводить к снижению устойчивости растений с нарушенным криптохромом 1 к засолению.

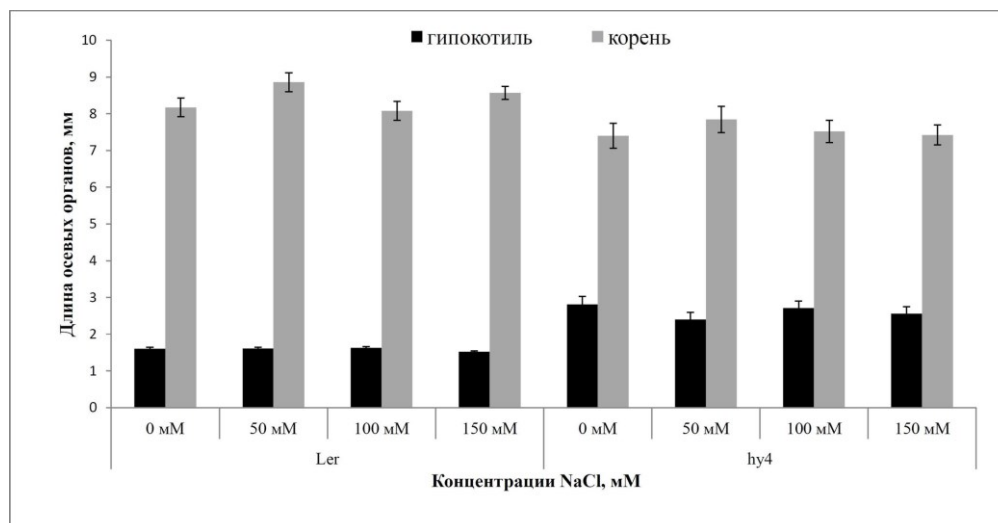
При деэтиоляции проростков синим светом у *Arabidopsis* запускалась программа светового развития, при этом мутантная линия проявляла меньшую чувствительность к действию света; гипокотили *hy4* были заметно длиннее гипокотилей родительской линии. Наличие ответной реакции у *hy4* обусловлена присутствием в растениях минорного фоторецептора синего света – криптохрома 2. Действие хлоридного засоления вне

зависимости от анализируемой концентрации на синем свете не оказывало негативного влияния на рост проростков. Подобная реакция была характерна для проростков родительской линии и его мутанта (рисунок 2).



**Рисунок 1. Ростые показатели проростков арабидопсис дикого типа *Ler* и мутанта *hy4* при засолении в темноте.**

Таким образом, нами впервые показано, что нарушение синтеза основного фоторецептора синего света – криптохрома 1 в темноте приводит к снижению устойчивости проростков *Arabidopsis* к действию хлоридного засоления.



**Рисунок 2. Ростые показатели проростков арабидопсис дикого типа *Ler* и мутанта *hy4* при засолении на синем свете.**

*Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ (проект № 12-04-31500).*

#### Литература

Гринин А.Л., Холодова В.П., Кузнецов Вл.В. Сравнительный анализ физиологических механизмов солеустойчивости различных сортов горчицы / Вестник Российского университета дружбы народов. Серия «Агрономия и животноводство». - 2010. - №1. - С. 27-38.

Ефимова М.В., Хасан Ж., Холодова В.П., Кузнецов Вл.В. Влияние brassinosterоидов на прорастание семян и рост рапса на начальных этапах онтогенеза при хлоридном засолении // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия «Агрономия и животноводство». - 2012.- № 3. - С. 12-20.

Costigan <http://www.plantphysiol.org/content/early/2011/08/29/pp.111.184689> - aff-1  
S.E., Warnasooriya <http://www.plantphysiol.org/content/early/2011/08/29/pp.111.184689> - aff-1  
S.N., Humphries <http://www.plantphysiol.org/content/early/2011/08/29/pp.111.184689> - aff-1  
B.A., Montgomery B.L.  
<http://www.plantphysiol.org/content/early/2011/08/29/pp.111.184689> - aff-1  
Root-localized phytochrome chromophore synthesis is required for photoregulation of root elongation and impacts root sensitivity to jasmonic acid in *Arabidopsis thaliana* // Plant Physiology. 2011.- Vol. 157.- P. 1138–1150

FAO. Global network on integrated soil management for sustainable use of salt-affected soils / Rome, Italy: FAO Land and Plant Nutrition Management Service. 2005. <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>.

Kholodova V., Volkov K., Kuznetsov V.I. Plants under heavy metal stress in saline environments / Soil heavy metals. 2010. Heidelberg, Dordrecht, London New York: Springer-Verlag.- P. 163-183.- Series “Soil Biology”. Vol. 19.

Kuznetsov V.I., Shevyakova N.I. Polyamines and Plant Adaptation to Saline Environments // Desert Plants. Heidelberg, Dordrecht, London, New York : Springer-Verlag, 2010. P. 261–298.

Quail P. Phytochrome: a light-activated molecular switch that regulates plant gene expression // Annu Rev Genet. - 1991. - Vol. 25. - P. 389-409.

Shahid S.A., Rahman K. Soil salinity development, classification, assessment, and management in irrigated agriculture // Handbook of plant and crop stress. 3<sup>rd</sup> edition. 2011. Ed. M. Pessaraki. CRC Press Taylor & Francis Group. P. 23–38. 1194 p.

## **НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ТУБЕРОИДЕ ОРХИДНЫХ УМЕРЕННОГО КЛИМАТА И КОРРЕЛЯЦИЯ ЭТОГО ПРОЦЕССА СО СТЕПЕНЬЮ МИКОТРОФНОСТИ**

О.А. Маракаев<sup>1</sup>, С.В. Холмогоров<sup>1</sup>, Ю.В. Богомолов<sup>1</sup>, Н.В. Загоскина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, [olemar@yandex.ru](mailto:olemar@yandex.ru)

<sup>2</sup>Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, [phenolic@ippras.ru](mailto:phenolic@ippras.ru)

Стеблекорневые тубероиды или «клубни» представляют собой запасующие подземные органы ряда орхидных (Orchidaceae), произрастающих в умеренном климате северного полушария. Это сложные морфолого-анатомические образования, содержащие элементы как побегового, так и корневого происхождения [Тихонова, 1983]. Они имеют уплощенную форму и в нижней части рассечены на несколько долей, сужающихся в корнеподобные окончания [Вахрамеева, 2000]. Особенностью окончаний тубероида является их заселение микосимбиотомом, в результате чего формируется эумицетная толипофаговая эндомикориза [Селиванов, 1981]. Микосимбиотрофия для орхидных является облигатным условием онтогенеза [Rasmussen, 1995], проявления которой у взрослых автотрофных особей существенно варьируют, что, вероятно, отражает характер метаболического контроля растения над развитием микосимбионта и адаптационную стратегию вида к меняющимся экзо- и эндогенным факторам.

Механизмы регуляции микосимбиотрофии у орхидных умеренного климата северного полушария до настоящего времени остаются недостаточно изученными [Ras-



mussen, 1995; Вахрамеева и др., 2004; Smith, Read, 2008], хотя имеются данные об участии в этом процессе фитоалексинов, в частности орхинола [Arditti, 1979; Arditti et al., 1975; Hadley, 1982]. Большинство фитоалексинов, образующихся в тканях растений в ответ на поражение, представлено фенольными соединениями (ФС) [Запрометов, 1993; Arditti, 1979; Koide, Schreiner, 1992]. Однако сведения о фенольном статусе тубероидов орхидных умеренного климата северного полушария единичны [Маракаев и др., 2007]. Крайне ограничены также данные о проникновении и развитии в них микосимбионта [Вахрамеева и др., 2004]. Между тем, взаимодействие орхидных с микоризным грибом является облигатным условием онтогенеза [Hadley, 1982; Rasmussen, 1995; Smith, Read, 2008] и может быть лимитирующим фактором их существования в природных условиях, обуславливая редкость этих растений [Ефимов, 2010]. Изучение накопления ФС в связи с микосимбиотрофией у орхидных в естественных условиях произрастания с учетом их физиологического состояния, фаз вегетации и времени года позволит раскрыть характер метаболического контроля в системе «растение – микосимбионт», что актуально для выявления адаптационных способностей редких видов.

В настоящей работе исследовали особенности накопления и распределения ФС в тубероидах пальчатокоренника пятнистого *Dactylorhiza maculata* (L.) Соб – представителя орхидных умеренного климата России, а также выявляли корреляционные связи между их фенольным статусом и степенью микотрофности в динамике роста и развития запасующих органов.

Подземные органы *D. maculata* отбирали ежемесячно с момента образования молодого тубероида (июнь) до его отмирания в конце следующего сезона вегетации (август), когда на растении формировался новый замещающий тубероид. ФС экстрагировали из свежего материала горячим 80%-ным этанолом. Спектрофотометрическим методом в экстрактах определяли содержание суммы растворимых ФС (с реактивом Фолина-Дениса; 725 нм) и содержание флавоноидов (с хлористым алюминием; 415 нм) [Запрометов, 1971]. Калибровочные кривые в обоих случаях строили по рутину. Степень микотрофности оценивали на давленных препаратах подземных органов после их мацерации и окрашивания раствором анилиновой сини в молочной кислоте [Селиванов, 1981]. Статистическую обработку результатов проводили по стандартным методикам [Зайцев, 1984] с использованием программы Excel'2007. Для установления зависимости между полученными экспериментальными данными использовали методы корреляционного анализа [Зайцев, 1984]. Расчитывали показатель корреляции рангов по Спирмену и выборочный коэффициент корреляции. Значимость полученных коэффициентов проверяли с помощью t-критерия Стьюдента (при уровне значимости  $p \leq 0,05$ ).

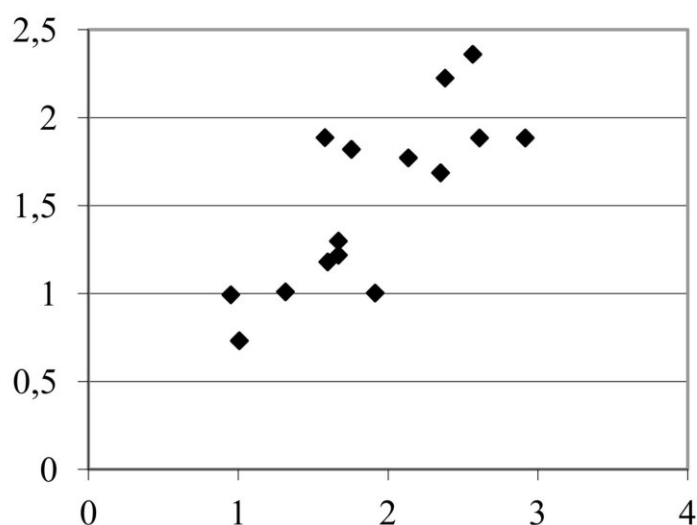
Установлено отсутствие микосимбионта в утолщенной части тубероида *D. maculata* в течение всего периода его развития на растении. При этом на начальных этапах роста тубероида (июнь-июль) содержание ФС в его утолщенной части не менялось, а затем постепенно увеличивалось и к сентябрю почти вдвое превышало таковое начала вегетации (июнь). В дальнейшем значительных изменений в их количестве не наблюдалось и в зимующем тубероиде в большинстве случаев оно составляло  $1,75 \pm 0,17$  мкг/г сырой массы и лишь в феврале-марте было выше (в среднем на 20%). В начале следующей вегетации накопление ФС в тубероиде менялось незначительно, с некоторой тенденцией в сторону повышения в конце развития (июль-август). Что касается флавоноидов, то в утолщенной части старого тубероида оно было достаточно низким, за исключением завершающей фазы (август), когда их накопление возросло почти в 4 раза, составляя почти 38% от суммарного содержания ФС.

Окончания тубероида характеризовались активным развитием в них микосимбионта и повышенными уровнями накопления ФС и флавоноидов по отношению к утолщенной части запасующего органа, что особенно проявлялось в начальный период

их формирования (июнь) и в течение зимнего покоя (октябрь-март).

Выявлена прямая положительная корреляция между суммарным содержанием ФС в утолщенной части тубероида *D. maculata* и в его корневых окончаниях, заселяемых микосимбиотом в течение всего периода роста и развития органа. Эта тенденция четко проявляется как при использовании показателя корреляции рангов (0,72), так и выборочного коэффициента корреляции (0,79), графически представленного на рисунке. Для накопления флавоноидов в разных частях запасяющего органа также отмечено наличие значимой связи по показателю корреляции рангов, однако ее сила слабее (0,58). В случае с выборочным коэффициентом корреляции уровень связи этих показателей оказывается ниже значимого критерия и составляет 0,42, что позволяет говорить об умеренной корреляционной связи [Кобзарь, 2006].

Результаты корреляционного анализа между значениями степени микотрофности корневых окончаний и содержанием ФС в разных частях тубероида выявили наличие обратной зависимости во всех вариантах сравнения. Это свидетельствует о том, что вы-



**Рис. Взаимосвязь между суммарным содержанием ФС в утолщенной части тубероида (y) и в его корневых окончаниях (x).**

сокому уровню накопления ФС в утолщенной части или в корневых окончаниях запасяющего органа соответствует низкая степень микотрофности, что может указывать на активный лизис микосимбионта в клетках и/или отсутствие его проникновения в окончания тубероида из почвы. Выборочный коэффициент корреляции демонстрирует значимую силу зависимости этих параметров в утолщенной части тубероида и недостаточную силу их связи в корневых окончаниях (табл.). Показатель корреляции рангов также оказался ниже значимого критерия: для утолщенной части тубероида (-0,45) и для корневых окончаний (-0,34). Между степенью микотрофности в корневых окончаниях и содержанием флавоноидов в разных частях тубероида значимой корреляционной связи при использовании двух критериев не отмечено (табл.).

Таким образом, нами впервые получены данные о фенольном статусе тубероида у представителя орхидных, произрастающего в природных условиях умеренного климата северного полушария. С использованием методов корреляционного анализа выявлена взаимосвязь между накоплением ФС и флавоноидов в утолщенной части и в корневых окончаниях тубероида *D. maculata*, что, вероятно, обусловлено физиолого-биохимической целостностью запасяющего органа, несмотря на структурную обособленность его частей – наличие элементов побегового и корневого происхождения [Ти-

хонова, 1983]. Возможно, активация синтеза ФС, в том числе флавоноидов, происходит одновременно в клетках разных частей тубероида, либо они поступают в них из надземных органов растения и передвигаются в пределах запасающего органа. О том, что ФС способны транспортироваться по растению сообщалось в литературе [Запрометов, 1993; Bidel et al., 2010]. В работе также показано, что высокий суммарный уровень ФС в тубероидах *D. maculata* сопряжен с низкой степенью микотрофности их окончаний. Эта картина проявляется в разных частях запасающего органа: утолщенной (свободной от микосимбионта) и корневых окончаниях (заселяемых им), что дополнительно указывает на необходимость рассмотрения тубероида как единой функциональной системы. Наличие значимой обратной корреляционной связи между содержанием ФС в утолщенной части тубероида и степенью микотрофности корневых окончаний свидетельствует об активном метаболическом контроле над развитием микосимбионта, осуществляемом в запасающих органах *D. maculata* в периоды вегетации и естественного (глубокого) покоя.

**Таблица**

**Значения выборочного коэффициента корреляции между степенью микотрофности корневых окончаний и накоплением фенолов в тубероиде**

Содержание фенолов в тубероиде		Выборочный коэффициент корреляции	Критическое значение коэффициента корреляции ( $p \leq 0,05$ )
ФС	утолщенная часть	-0,541*	0,497
	корневые окончания	-0,427	0,497
флавоноиды	утолщенная часть	0,015	0,497
	корневые окончания	0,215	0,441

\* коэффициент значим при уровне  $p \leq 0,05$

#### Литература

- Вахрамеева М.Г. Род Пальчатокоренник // Биол. флора Моск. обл. М.: Гриф и К°. 2000. Вып. 14. С. 55-86.
- Вахрамеева М.Г., Татаренко И.В., Варлыгина Т.И. Основные направления изучения дикорастущих орхидных (Orchidaceae Juss.) на территории России и сопредельных государств // Бюл. МОИП. Отд. биол., 2004. – Т. 109. – Вып. 2. – С. 37-56.
- Ефимов П.Г. Сохранение орхидных (Orchidaceae Juss.) как одна из задач охраны биоразнообразия // Биосфера, 2010. – Т. 2. – № 1. – С. 50-58.
- Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. – М.: Наука, 1984. – 424 с.
- Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиологии растений. – М.: Наука, 1971. – С. 185-197.
- Запрометов М.Н. Фенольные соединения. – М., Наука, 1993. – 272 с.
- Кобзарь А.И. Прикладная математическая статистика. – М.: Физматлит, 2006. – С. 620-628.
- Маракаев О.А., Николаева Т.Н., Алявина А.К., Загоскина Н.В. Содержание фенольных соединений и состояние микосимбионта в вегетативных органах зимующей орхидеи // Вестник Тверского государственного университета. Серия Биология и экология, 2007. – № 8. – С. 20-27.
- Селиванов И.А. Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза. – М.: Наука, 1981. – 230 с.
- Тихонова М.Н. К вопросу о природе подземных органов некоторых представите-

лей трибы Orchideae // Бот. журн., 1983. – Т. 68. – № 5. – С. 648-652.

Arditti J. Aspect of orchid physiology // Advances in Bot. Research, 1979. – V. 7. – P. 421-465.

Arditti J., Flick B.H., Ehmann A., Fisch M.H. Orchid phytoalexins. II. Isolation and characterization of possible sterol companions // Amer. J. Bot., 1975. – V. 62. – P. 738-742.

Bidel L. P.R., Coumans M., Baissac Y. et al. Bioological activity of phenolics in plant cells // Recent advances in Polyphenol research / Eds. Cantos-Buelga C., Escribano-Bailon M.T., Lattanzio V. USA: Wiley-Blackwell, 2010. – V. 2. – P. 163-205.

Hadley G. Orchid mycorrhiza // Orchid biology – reviews and perspectives / Ed. J. Arditti. Ithaca, N.Y.: Cornell Univ. Press, 1982. – V. 2. – P. 83-118.

Koide R.T., Schreiner R.P. Regulation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 1992. – V. 43. – P. 557-581.

Rasmussen H.N. Terrestrial orchids: from seed to mycotrophic plant. Cambridge University Press, 1995. – 433 p.

Smith S.E., Read D.J. Mycorrhizal symbiosis. – Elsevier, 2008. – P. 419-457.

## **ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) НЕУНН. ПРИ АДАПТАЦИИ К УФ-А РАДИАЦИИ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ**

А.С. Минич, И.Б. Минич, О.В. Шайтарова, Н.Л. Пермякова,  
Ю.С. Белянцева, М.А. Юрьева, А.Г. Ивлева, А.Е. Иваницкий

Томский государственный педагогический университет, Томск, minich@tspu.edu.ru

УФ-А свет, обладая самой низкой проникающей способностью из всей УФ радиации, может влиять на морфогенез и продуктивность растений, особенно при его совместном действии с ФАР [Головацкая, Карначук, 1999]. Изменение интенсивности и соотношения ФАР и УФ-А излучения в солнечном излучении определяется временем года и суток, географической широтой и состоянием атмосферы [Данильченко, 2002], что приводит к различиям в морфогенезе и продуктивности растений [Ермаков и др., 1972].

Существует предположение, что наряду с фотосинтетическими пигментами (ФСП) и аскорбиновой кислотой (АК) в управление фотоморфогенезом вовлечены эндогенные фитогормоны растений [Житорчук и др., 1974]. Однако связь между световым потоком УФ-А излучения и содержанием эндогенных фитогормонов изучена недостаточно.

Целью работы явилось выяснение ответных физиолого-биохимических реакций *Arabidopsis thaliana* на УФ-А излучение низкой интенсивности.

Материалы и методы. В работе использовали две линии *Arabidopsis thaliana* (L.) Неунн. экотипа Landberg *erecta*: дикий тип *Ler* и мутант по фоторецептору *hy4*. Мутант *hy4* является дефектным по структуре гена *CRY1* и характеризуется ослабленным морфогенетическим ответом на синий и УФ-А свет при морфогенезе проростков [Кефели и др, 1973].

*Arabidopsis* выращивали по схеме: 8 ч темнота / 16 ч облучение на белом свете (БС) (интенсивность 63,0 Вт/м<sup>2</sup>, контроль) и на комбинированном свете (КБС), состоящим из БС и УФ-А радиации (интенсивность 0,7 Вт/м<sup>2</sup>, опыт). Источниками света служили люминесцентные лампы Fluora («Osram», Германия) и УФ лампы Black Light («Philips», Нидерланды). Семена *Arabidopsis* высевали в невысокие предварительно дренированные ёмкости с грунтом и проращивали. Полив производили капиллярным

способом. В процессе роста проводили измерения морфометрических параметров растений и биохимических показателей.

Эндогенные фитогормоны выделяли из сырого растительного материала [Кудоярова и др., 1990]. Для выделения свободных ИУК и АБК экстракт упаривали до водного остатка и экстрагировали диэтиловым эфиром при pH=3.0 по [Чупахина, 1997]. Разделение свободных ИУК и АБК проводили с помощью ТСХ в системе растворителей: диэтиловый эфир – хлороформ – уксусная кислота (100:100:1, по объему). Идентификация фитогормонов на хроматограмме проводили по положению метчиков ИУК и АБК («Sigma-Aldrich», США). Количественное определение фитогормонов проводили с помощью твердофазного иммуноферментного метода [Шлык, 1972].

Содержание АК рассчитывали после титрования краской Тильманса вытяжек растительного материала [Arrigoni, De Tullio, 2002].

Содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений определяли спектрофотометрическим способом в 100%-ных ацетоновых экстрактах, рассчитывая по формуле Хольма [Conn et al., 1991].

Для статистической обработки экспериментальных результатов использовали программу «Excel». Оценка достоверности результатов исследований проводили из трех независимых экспериментов, каждый из которых проведен в трех биологических повторностях минимум на 30 растениях, при 95 %-ом уровне надежности.

Результаты и обсуждение. С начальных этапов онтогенеза у *Arabidopsis* всех исследуемых линий отметили ингибирующее действие УФ-А излучения на ростовые процессы растений. У растений *Ler* и *hy4* на КБС прорастание семян, распрямление изгиба гипокотыля и раскрытие семядолей наблюдали на 1-2 суток позже по сравнению с растениями соответствующих линий на БС. В дальнейшем это привело к более сильному торможению роста и развития *Arabidopsis* на КМС, что привело к увеличению срока вегетации *Arabidopsis* на КБС на 7-11 суток в зависимости от линии *Arabidopsis*.

Фенотипические изменения сопряжены с изменениями морфометрических параметров растений. Адаптация *Arabidopsis thaliana* обеих линий на дополнительную экспозицию УФ-А светом сопровождалась формированием меньшего размера листовых пластинок, длины главного и боковых цветonoсных побегов. Динамика сырой массы и массы сухого вещества растений определялась меньшими размерами поверхности листьев и длины цветonoсных побегов на КБС. На КБС отметили в среднем в 2 раза меньшее число сформированных репродуктивных органов. Это способствует снижению реальной семенной продуктивности растений *Ler* в 2.8 раза, *hy4* – в 2.5 раза. Причем снижение происходит как за счет уменьшения числа стручков, так и семян в стручке – у *Ler* в 2 раза, у *hy4* – в 1.3 раза.

Дополнительное облучение УФ-А светом *Arabidopsis thaliana Ler* и *hy4* способствует торможению синтеза ИУК и усиливает накопление АБК. Максимальные изменения уровня ИУК и АБК установили на момент цветения и формирования стручков (28-35 суток).

В условиях КБС в начале вегетации отметили увеличение содержания ФСП в листьях *Arabidopsis Ler* в 1.5-2.0 раза. В дальнейшем содержание ФСП в опыте и контроле достоверно не отличалось. Уменьшение содержания каротиноидов (Кар) показывает, что они участвуют в защите хлорофилла (Хл) от фотоокислительного повреждения при действии УФ света [Deng, 1994; Edge et al, 1997; Frank, 1999; Koornneef et al., 1980]. Это дополнительно подтверждается отсутствием изменений в накоплении Хл в период активного роста цветonoсных побегов, массового образования и развития листьев и репродуктивных органов. В листьях растений *hy4* на КБС отметили увеличение соотношения Хл *a/b* и соотношение Хл (*a+b*)/Кар вследствие повышенного уровня Хл *a* и уменьшения накопления Кар, что указывает на адаптивные изменения в светособира-

ющем белковом комплексе у мутанта в ответ на действие УФ-А радиации [Edge, 1997].

УФ-А излучение в начале вегетации интенсифицирует процесс синтеза и накопления АК в листьях растений *Ler* и мутанта *hy4*. Максимальный уровень АК на КБС и БС наблюдали на начальном этапе перехода растений в репродуктивную фазу. При этом увеличение в 1.5-2.0 раза содержание АК у растений на КБС. Повышенный уровень АК указывает на ее участие в процессах адаптации растений в ответ на УФ-А облучение, что описано в [Koyama, 1991]. В период массового цветения наблюдали уменьшение содержания АК в листьях растений обеих линий *Arabidopsis*, как на КБС, так и на БС, что сопряжено с увеличением уровня Хл *a*. Можно полагать, что АК расходуется на синтез Хл *a* в ответ на УФ-А облучении данной интенсивности. Это согласуется с литературными данными, указывающими на участие АК в биосинтезе фотосинтетического аппарата растительной клетки, стабилизации его фотохимической активности [O'Vein et al., 1985]. В фазу массового формирования стручков (35 суток) у растений обеих линий на КБС, отметили снижение уровня АК в 1.5-2.5 раза. Наши результаты подтверждают опубликованные данные, указывающие на интенсивное расходование АК при формировании генеративных органов, так как АК служит антиоксидантом в ответ на УФ лучи [Koyama, 1991; O'Vein et al., 1985]. Постоянное снижение уровня АК, по нашему мнению, способствует также удлинению репродуктивного периода растений.

Анализ полученных результатов показывает, что световая адаптация растений *Arabidopsis Ler* и *hy4* к облучению их УФ-А светом низкой интенсивности проявляется уже на начальном этапе онтогенеза. Это отражается в ингибировании ростовых реакций, в замедленном развитии репродуктивных органов растений, что приводит к удлинению сроков вегетации *Arabidopsis* и в уменьшении их семенной продуктивности. УФ-А радиация изменяет динамику и уровень накопления АК, эндогенных фитогормонов и ФСП.

#### Литература

Головацкая И.Ф., Карначук Р.А. Свет и растение. – Томск: Изд-во Томского гос. ун-та, 1999. – 100 с.

Данильченко О.А., Гродзинский Д.М., Власов В.Н. Значение ультрафиолетового излучения в жизнедеятельности растений // Физиология и биохимия культурных растений, 2002. – Т. 34. – № 3. – С. 187-197.

Ермаков А.И., Арасимович И.Б., Смирнова-Иконникова М.И., Ярош Н.П., Луковникова Г.А. Методы биохимического исследования растений. – Л.: Колос, 1972. – 456 с.

Житорчук Ю.В., Стадник В.В., Шамина И.Н. Исследование линейных трендов во временных рядах солнечной радиации // Изв. РАН. Сер. Физика атмосферы и океана, 1994. – Т. 30. – № 3. – С. 389-391.

Кефели В.И., Турецкая Р.Х., Коф Э.М., Власов П.В. Определение биологической активности свободных ауксинов и ингибиторов роста в растительном материале // Методы определения фитогормонов, ингибиторов роста, дефолиантов и гербицидов / Под ред. Ракитина Ю.В. – М.: Наука, 1973. – С. 7-22.

Кудоярова Г.Р., Веселов С.Ю., Каравайко Н.Н., Гюли-заде В.З., Чередова Е.П., Мустафина А.Р., Мотков И.Е., Кулаева О.Н. Иммуноферментная система для определения цитокининов // Физиология растений, 1990. – Т. 37. – С. 193-199.

Чупахина Г.Н. Система аскорбиновой кислоты растений: Монография. – Калининград: Изд-во Калининград. ун-та, 1997. – 120 с.

Шлык А.А. Биосинтез хлорофилла и формирование фотосинтетических систем. В сб.: Теоретические основы фотосинтетической продуктивности. – М.: Наука, 1972. – 460 с.

Arrigoni O., De Tullio M.C. Ascorbic acid: much more than just an antioxidant // *Biochim. Biophys. Acta*, 2002. – Vol. 1569. – P. 1-9.

Conn P.F., Schalch W., Truscott P.F. The singlet oxygen and carotenoid interaction // *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 1991. – Vol. 11. – P. 41-47.

Deng X.-W. Fresh View of Light Signal Transduction in Plants // *Cell*, 1994. – V. 102. – P. 432-426.

Edge R., McGarvey D.J., Truscott T.G. The carotenoids as antioxidants – a Review // *Photochem. Photobiol. Ser. Biol.*, 1997. – Vol. 41. – P. 189-200.

Frank H.A. Incorporation of carotenoids into reaction center and light-harvesting pigment-protein complexes // *Photochemistry of Carotinoids* / Eds H.A. Frank et al. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1999. – P. 235–244.

Koornneef M., Rolffand E., Spruit C.J.P. Genetic Control of Light-Inhibited Hypocotyl Elongation in *Arabidopsis thaliana* // *Z. Pflanzenphysiol.*, 1980. – V. 100. – P. 147-160.

Koyama Y. Structures and functions of carotenoids in photosynthetic systems // *J. Photochem. Photobiol. Ser. Biol.*, 1991. – Vol. 9. – P. 265-280.

O’Brein T., Beall F.D., Smith H. De-Etiolation and Plant Hormones. Hormonal Regulation of Development III // *Encycl. of Plant Physiol. New. Ser. V. 2.* Berlin: Springer-Verlag. 1985. – P. 282-307.

## **ВЗАИМОСВЯЗЬ РОСТА ЭТИОЛИРОВАННЫХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА С УРОВНЕМ ОКСИДА АЗОТА (NO) В КОРНЯХ**

Н.Б. Митанова, А.К. Глянько, А.А. Ищенко, Г.Г. Васильева

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, [akglyanko@sifibr.irk.ru](mailto:akglyanko@sifibr.irk.ru)

Оксид азота (NO) – свободный радикал и многофункциональная сигнальная молекула [Benson-Bard et al., 2008; Колупаев, Карпец, 2009]. В растениях ключевая роль NO обнаружена в регуляции роста и развития растений, связанной, в частности, с прорастанием семян, цветением, закрыванием устьиц, образованием латеральных корней и корневых волосков, а также с экспрессией генов защиты и программированной клеточной смертью [Neill et al., 2003]. NO вступает в химические реакции с различными клеточными соединениями, обладающими либо токсичностью, либо свойствами регуляторных молекул [Feechan et al., 2005]. В литературе окончательно не решен вопрос о генерации и локализации NO в растениях. Тем не менее в настоящее время общепринято, что основными источниками образования NO в растениях являются L-аргинин и нитрат-нитритзависимые пути генерации оксида азота [Benson-Bard et al., 2008]. Первый путь синтеза NO осуществляется с участием L-аргинина как субстрата в реакции, катализируемой ферментом, подобного NO-синтазе из животных клеток. Второй путь связан с восстановлением нитратов и нитритов цитозольной нитратредуктазой (НР), которая катализирует восстановление нитратов до нитритов и далее нитритов до NO. Известно об участии NO в образовании корней [Correa-Aragunde et al., 2004; Lamattina et al., 2003; Tewari et al., 2008]. При этом в этих процессах отмечается функциональная связь оксида азота с фитогормональным обменом. Предполагают, что в ауксинзависимом образовании придаточных корней NO действует как вторичный мессенджер в синтезе ИУК [Pagnussat et al., 2003]. Несомненный интерес представляет вопрос о генерации NO в эпидермальных клетках корней проростков гороха при действии внешних биотических и абиотических факторов [Глянько и др., 2012]. Однако связь ростовых процессов растения с накоплением в клетках NO – процесс практически не исследованный, в том числе при использовании соединений, являющихся источниками или

субстратами для ферментативных реакций образования оксида азота. В настоящей работе сделана попытка выяснить связь роста этиолированных проростков гороха с уровнем NO в корнях и влияние азотных экзогенных соединений на эти процессы.

**Методика.** Объект исследований – этиолированные проростки гороха посевного (*Pisum sativum* L.), сорт Ямальский (селекция ЗАО «НПФ Сибирская аграрная компания», Россия). Стерилизованные поверхностно семена проращивали в кюветах на влажной фильтровальной бумаге при 22°C в течение 2 суток, считая с момента замачивания. Для исследований отбирали проростки, критерием однородности которых служила длина корней (включая эпикотиль) 25-30 мм. Для дальнейшего роста проростки помещали на 24 ч в пластмассовые кюветы на фильтровальную бумагу, смоченной дистиллированной водой или растворами испытываемых соединений. Определение уровня NO в тканях корня проводили с использованием флуоресцентного зонда 4,5-диаминофлуоресцеин диацетат (DAF-2DA) (см. статью А.А. Иценко с соавт. в данном сборнике). При определении скорости роста корней (мм/ч) использовали величину прироста корней за 24 ч. Применяли реактивы: DAF-2DA (Calbiochem, Germany); нитропруссид натрия, гемоглобин из эритроцитов лошади (MP Biomedicals, USA), L-аргинин, KNO<sub>3</sub> и NaNO<sub>2</sub> (Россия, Реахим). Величины представляют средние арифметические с указанием стандартной ошибки из 3 независимых экспериментов, проведенных в трехкратной биологической повторности. Количество анализируемых срезов при микроскопических исследованиях не менее 20 в каждой повторности. Достоверность различий средних значений оценивали по критерию Стьюдента.

**Результаты исследований.** Представлены два физиологических параметра: скорость роста этиолированных проростков гороха (мм/ч) и уровень NO в корнях (интенсивность флуоресцентного свечения в срезах корней). Полученные результаты сводятся к следующему.

1. Нитропруссид натрия (НПН). Данное соединение способно в клетках организмов высвобождать оксид азота. Стимулирующее влияние на рост проростков гороха оказала концентрация НПН 0,05мМ; концентрация 0,1 мМ не оказала влияния, а ингибирующий эффект NO четко проявился при концентрации 4 мМ. Уровень NO в клетках корня достигает максимума при концентрации НПН 4 мМ. Гемоглобин (4 мкМ) элиминировал ингибирующий эффект НПН на рост проростков.

2. Нитрат (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Это соединение – субстрат для ферментативной реакции восстановления NO<sub>3</sub><sup>-</sup> до нитрита (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), катализируемой цитозольной нитратредуктазой (НР) (ЕС 1.7.1.1). Далее нитрит восстанавливается самой же НР до NO или же восстанавливается в пластидах нитритредуктазой (НИР) (ЕС 1.7.1.4) до аммиака (NH<sub>3</sub>). Показано, что низкие концентрации KNO<sub>3</sub> не влияли на рост корней и только сверхвысокая доза 20 мМ оказала отрицательное влияние на ростовые процессы, снизив достоверно скорость роста проростков на 16-17 %. Уровень NO в корнях при этой дозе и экспозиции 24 ч не отличался от контроля. Однако добавление в среду гемоглобина практически снимает ингибирующий эффект высокой дозы нитрата на рост, увеличивая достоверно скорость роста с 0,63 до 0,75 мм/ч.

3. Нитрит (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). В клетках растений NO<sub>2</sub><sup>-</sup> восстанавливается до NO или NH<sub>3</sub>. Восстановление экзогенного NO<sub>2</sub><sup>-</sup> может, по-видимому, осуществляться уже на плазмалемме клеток корня с участием нитрит-NO-редуктазы [Stohr et al., 2001]. Концентрации NaNO<sub>2</sub> 0,1 и 0,5 мМ не оказали достоверного влияния на рост корней. Сильное ингибирующее влияние на рост наблюдалось при концентрации 2мМ. Уровень NO в корнях в этом варианте превышает контроль более чем в 2 раза. Добавление гемоглобина в среду достоверно повышало скорость роста с 0,47 до 0,60 мм/ч.

4. L-аргинин. Эта белковая аминокислота в животных тканях является субстратом в реакции окисления L-аргинина до L-цитруллина и NO, катализируемой ферментом



NO-синтазой (КФ 1.14.13.39). В растениях доказано участие L-аргинина в реакциях, ведущих к образованию NO, но фермент идентичный NO-синтазе животных не идентифицирован [Besson-Bard et al., 2008]. В наших исследованиях концентрация аргинина 0,1 мМ не оказала влияния, а негативное влияние аргинина на рост корней проявилось при концентрации 4 мМ. Однако уровень NO в корнях при этой концентрации и экспозиции 24 ч не повышался, а снижался по сравнению с контролем. В этом варианте гемоглобин не оказал достоверного положительного эффекта на рост.

Полученные данные свидетельствуют о том, что торможение роста проростков в ряде вариантов совпадает с накоплением NO в корнях: такая закономерность наблюдается в вариантах с НПН и нитритами. Ингибирующее влияние NO на рост в этих вариантах может быть связано с негативными эффектами оксида азота на процессы метаболизма: усиление перекисного окисления липидов, модификация белков, содержащих остатки цистеина и тирозина, что препятствует их фосфорилированию [Reiter et al., 2000]. Это ведет к ингибированию металлосодержащих ферментов, например, цитохрома *c* в митохондриях [Yamasaki et al., 2010], накоплению в клетках S-нитрозотиолов, S-нитрозоглутатиона и других дериватов NO [Valderrama et al., 2007]. В вариантах с нитратами и L- аргинином, где максимальное ингибирование роста не совпадает с накоплением NO, уровень оксида азота может быть связан с его быстрым включением в обменные процессы, в результате чего образуются соединения, могущие оказывать отрицательный эффект на рост проростков (например, образование пероксинитрита в результате реакции NO с  $O_2^{\cdot-}$ ). Экзогенный гемоглобин снимал (вариант с нитратами) или смягчал (варианты с НПН и нитритами) негативное влияние высоких концентраций изученных соединений на рост проростков. Это свидетельствует о том, что негативное влияние на рост было связано с токсическим действием свободного оксида азота. В варианте с L-аргинином токсическое действие, по-видимому, связано с негативным влиянием дериватов NO. Можно заключить, что высокие дозы N-соединений вызывают нитрозативный стресс, характеризующийся накоплением свободного оксида азота и его дериватов, оказывающих отрицательное влияние на рост и другие физиологические процессы [Valderrama et al., 2007].

#### Литература

Глянько А.К., Митанова Н.Б., Степанов А.В. Влияние факторов среды на генерацию оксида азота (NO) в корнях этиолированных проростков гороха // Прикладная биохимия и микробиология, 2012. - Т. 48. - № 1. - С. 95–102.

Колупаев Ю.Е., Карпец В.Е. Участие оксида азота (NO) в трансдукции сигналов абиотических стрессоров у растений // Вестник Харьковского нац. аграрного ун-та. Серия Биология, 2009. - Вып.3 (18). - С. 6–19.

Besson-Bard A., Pugin A., Wendehenne D. New insights into nitric oxide signaling in plants // *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2008. - V. 59. - P. 21–39.

Correa-Aragunde N., Graziano M., Lamattina L. Nitric oxide plays a central role in determining lateral root development in tomato // *Planta*, 2004.- V.218. - № 6. - P. 900–905.

Feechan A., Kwon E., Yun B.W. et al. A central role for S-nitrosothiols in plant disease resistance // *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 2005. - V.102. - № 22. - P. 8054–8059.

Lamattina L., Garcia-Mata C., Graziano M. et al. Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule // *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2003. - V. 54. - P. 109–136.

Neill S.J., Desikan R., Hancock J.T. Nitric oxide signaling in plants // *New Phytol.*, 2003. - V. 159. - № 1. - P. 11–35.

Pagnussat G.C., Lanteri M.L., Lamattina L. Nitric oxide and cyclic GMP are messengers in the indole acetic acid-induced adventitious rooting process // *Plant Physiol.*, 2003. - V. 132. - № 3. - P. 1241–1248.

Reiter C.D., Tend R.L., Beckman J.S. Superoxide reacts with nitric oxide to nitrate tyrosine at physiological pH peroxynitrite // J. Biol. Chem., 2000. - V. 275. - № 42. - P. 32460–32466.

Stohr C., Strube F., Marx G. et al. A plasma membrane-bound enzyme of tobacco roots catalyses the formation of nitric oxide from nitrite // Planta, 2001. - V. 212. - № 5–6. - P. 835–841.

Tewari R.K., Kim S., Hahn E-J. et al. Involvement of nitric oxide-induced NADPH oxidase in adventitious root growth and antioxidant defense in *Panax ginseng* // Plant Biotech. Rep., 2008. - V.2. - № 1. - P. 113–122.

Valderrama R, Corpas F.J., Carreras A. et al. Nitrosative stress in plants // FEBS Lett., 2007. - V.581. - № 3. - P. 453–461.

Yamasaki H., Shimoji H., Ohshiro Y. et al. Inhibitory effects of nitric oxide on oxidative phosphorylation in plant mitochondria // Nitric Oxide, 2010. - V.5. - № 3. - P. 261–270.

## **ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ЛЕКТИНОВ В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ И СТЕВИОЗИДА**

А.Л. Михайлов, Ю.Ю. Невмержицкая, О.А. Тимофеева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, mixlove2010@mail.ru

Среди многочисленных загрязнителей окружающей среды наиболее токсичными для живых организмов, в том числе растений, являются тяжелые металлы (ТМ). В связи с этим одной из приоритетных задач современного растениеводства становится поиск новых регуляторов роста и физиологически активных веществ, способных эффективно регулировать уровень тяжелых металлов в растениях. В настоящее время большой интерес вызывают природные соединения, часто обладающие специфичной биологической активностью. К таким веществам относятся сладкие дитерпеноидные гликозиды, которые содержатся в растении *Stevia rebaudiana* Bertoni. Известно, что агликон стевииозиды – стевииол, благодаря особенностям своего строения, претендовал на роль предшественника гибберелловой кислоты [Hanson, 1968]. В связи с этим целью нашей работы состояла в исследовании динамики изменений активности лектинов в проростках пшеницы при действии стевииозиды и тяжелых металлов.

Объектом исследования служили корни проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Мироновская 808. Стевиозид был получен из растительного сырья в ИОФХ им. А.Е. Арбузова в лаборатории фосфорных аналогов природных соединений чл. – корп. РАН В.Ф. Миронова. Растения выращивали в лабораторных условиях в кюветах на водопроводной воде при освещении 100 Вт/м<sup>2</sup> и 12-часовом фотопериоде при температуре 23 °С в течение 9 сут. В опытных вариантах растения росли на растворе стевииозиды (10<sup>-8</sup> М). Затем 5-ти суточные растения переносили на растворы тяжелых металлов CdSO<sub>4</sub>, CuSO<sub>4</sub> в концентрации 10 мкМ и 1мМ. Растворимые лектины экстрагировали 0.05 н HCl, лектины клеточной стенки- 0.05% раствором тритона X-100. Лектиновую активность определяли с помощью реакции гемагглютинации с эритроцитами 1 группы крови. Белок определяли по методу Bradford. Измерение концентрации тяжелых металлов проводили методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии. Опыты проводили в 3-х биологических повторностях.

Анализ накопления металлов показал, что и в корни, и в листья проростков Cd и Cu поступали в заметных количествах как при 1 мМ, так и 10 мкМ в среде выращивания растений, причем в корнях содержание ТМ было значительно выше по сравнению с листьями (табл.1). Кадмий в большей степени адсорбировался в растениях по сравне-

нию с медью.

Предварительная обработка растений стевиозидом приводила к уменьшению накопления кадмия и меди в высокой концентрации в надземной части проростков, но увеличивала накопление этих металлов в корнях. Наблюдаемое в наших экспериментах торможение поступления и накопления ТМ в надземной и подземной части проростков озимой пшеницы после предобработки раствором дитерпенового гликозида обусловлена, по-видимому, химическими свойствами стевиозида и его протекторной способностью.

В течение эксперимента наблюдались незначительные изменения активности растворимых лектинов у контрольных растений, которые можно объяснить суточной динамикой в ходе всего эксперимента.

**Таблица 1**

**Влияние стевиозида ( $10^{-8}$  М) на содержание ТМ в корнях и листьях проростков озимой пшеницы, мкг/г сух.веса**

вариант	корни		листья	
	- стевиозид	+стевиозид	- стевиозид	+стевиозид
контроль	960	1480	160	500
Cd(1мМ)	819060	687100	42800	24480
Cd(10мкМ)	42140	37700	4540	3880
контроль	2000	5580	1220	1160
Cu(1мМ)	26280	11620	3540	1400
Cu(10мкМ)	4540	2980	1720	1120

Изучение динамики активности растворимых лектинов при выращивании растений на растворах  $\text{CuSO}_4$  и  $\text{CdSO}_4$  как с высокой (1 мМ), так и с низкой концентрацией (10 мкМ) показало, что активность этих белков значительно возрастала в течение всего эксперимента (1-4 сут) и достигала своего максимального значения на 4-е сутки. При этом чувствительность активности растворимых лектинов к кадмию была выше, чем к меди. Вероятно, увеличение активности растворимых лектинов является транзитным и растет по мере развития повреждения растений от тяжелых металлов. В тоже время, известно, что АЗП является стрессовым белком, и увеличение его активности может свидетельствовать о вовлечении АЗП в защитные реакции к действию тяжелых металлов.

Механизм действия регуляторов роста осуществляется через изменения в синтезе и активности различных белков. Имеются данные о способности лектинов, помимо углеводов, связываться с молекулами фитогормонов. Так, лектин пшеницы АЗП обладает высоким сродством к целому ряду фитогормонов, таких, как ауксины, цитокинины и гиббереловая кислота [Вогоева, 2004]. Можно предположить, что комплекс лектины – фитогормоны участвует в запасании гормонов и регуляции роста растений [Oliveria, 2008]. В связи с этим мы определяли динамику активности у растений, выращенных на среде со стевиозидом. Стевиозид незначительно повышал активность растворимых лектинов по сравнению с контролем в течение всего эксперимента.

Предварительная обработка растений пшеницы раствором стевиозида ( $10^{-8}$  М) в течение 4 суток уменьшала эффект обеих концентраций  $\text{CdSO}_4$  и  $\text{CuSO}_4$  на активность растворимых лектинов, причем наибольшее протекторное действие стевиозида проявилось на фоне  $\text{CuSO}_4$  (10 мкМ) на 4 сутки эксперимента.

При высаживании растений озимой пшеницы на растворы с избытком Cd и Cu

уже через сутки наблюдалось значительное увеличение активности лектинов, связанных с клеточной стенкой, при этом высокие концентрации ТМ в большей степени влияли на лектины клеточной стенки, по сравнению с низкими концентрациями. В низких концентрациях (10 мкМ) медь и кадмий стимулировали активность этих белков только на 4-е сутки.

Стевиозид ( $10^{-8}$  М), добавленный в среду выращивания растений, ингибировал активность лектинов клеточной стенки.

Предварительная обработка растений стевиозидом снимала эффект кадмия на активность лектинов клеточной стенки до уровня контрольных растений, начиная с первых суток эксперимента.

В варианте с Cu (1 мМ и 10 мкМ) под влиянием стевиозида происходило значительное увеличение активности лектинов клеточной стенки на 1-3 сутки эксперимента, а на 4-е сутки активность лектинов клеточной стенки в этом варианте достигала уровня контрольных растений.

Модификация действия тяжелых металлов на культурные растения при применении различных регуляторов роста показана в ряде работ [Башмаков с соавт., 2012; Лукаткин с соавт., 2003; Серегина, 2005]. Установлены протекторные свойства регуляторов роста растений в условиях токсического действия тяжелых металлов, при применении некоторых из них выявлено уменьшение накопления тяжелых металлов. С другой стороны применение ряда соединений в условиях действия тяжелых металлов может приводить к усилению накопления и/или токсического действия металлов на растения. Наблюдаемая в наших экспериментах модификация влияния тяжелых металлов на рост проростков озимой пшеницы после предобработки раствором стевиозида, по-видимому, обусловлена видом поллютанта и его химическими свойствами.

#### Литература

Башмаков Д.И., Пыненкова Н.А., Сазанова К.А., Лукаткин А.С. Влияние синтетического регулятора роста цитодеф и тяжелых металлов на окислительный статус растений огурца // Физиол. раст. 2012. Т. 59. № 1. С. 67-73.

Лукаткин А.С., Гришенкова Н.Н., Грачева Н.В. Влияние регуляторов роста на проницаемость клеточных мембран в листьях кукурузы при стрессовом воздействии ионов  $Ni^{2+}$ . // Материалы III Международной конференции «Регуляция роста и продуктивности растений». – Минск, 2003. – 215 с.

Серегин И.В., Кожевникова А.Д. Распределение кадмия, свинца, никеля и стронция в набухающих зерновках кукурузы // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, № 4. – С. 635-640.

Bogoeva V.P., Radeva M.A., Atanasova L.Y., Stoitsova L.Y., Boteva R.N. // Biochim. Biophys. Acta. - 2004. - V. 1698. - P. 213-218.

Hanson J.R. The tetracyclic diterpenes // Oxford.: Pergamon - 1968. – P. 132.

Oliveira B.H., Stiirmer J.C., Filho J. D. S. [et al.] Plant growth regulation activity of steviol and derivatives // Phytochemistry – 2008. - V.69. - P. 1528-1533.

## ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНОГО ЗАТОПЛЕНИЯ НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И СОДЕРЖАНИЯ ЛИГНИНА В ЛИСТЬЯХ *SAGITTARIA SAGITTIFOLIA* L.

Е.М. Недуха, Т.Б. Котенко

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев, o.nedukha@hotmail.com

Затопление – один из главных абиотических стрессов для растения. Оно провоцирует серию проблем для сельскохозяйственных культур, а также влияет на сохранение и распределения видов в естественных популяциях. Почвенное затопление оказывает влияние на рост и развитие растения вследствие возникающей в корневой системе гипоксии [Jackson, Colmer, 2005]. Внешние клеточные стенки затопленных корней и стеблей являются первыми и основными барьерами между растением и водной средой. Установлено, что подводные листья ряда гидрофитов и проростков риса содержат кутикулярные поры, через которые осуществляется газовый транспорт [Rose-John, Kende, 1984; Nedukha, 2010]. Кроме этого, выявлен эффект длительного затопления на содержание некоторых полисахаридов в стеблях *Ludwigia repens* [Little, 2003]. Известно, что полисахариды клеточных стенок, в частности лигнин, играют существенную роль в ингибировании апопластного водного транспорта у мезофильных растений. Участие полисахаридов клеточных стенок в адаптационных процессах к воздействию затопления исследовано недостаточно. Удобной моделью для такого изучения могут служить подводные листья естественных гидрофитов. Целью нашей работы было изучение локализации, распределения и содержания лигнина в подводных и надводных листьях *Sagittaria sagittifolia* L.

**Материалы и методы.** Подводные и надводные листья *Sagittaria sagittifolia* были использованы для цитохимических и биохимических исследований. Растения собирали в июне, в фазе вегетативного роста на берегу Русановского залива (левый берег р. Днепр, в Киеве) на глубине до 80-100 см. Для цитохимических исследований брали по три подводных и три воздушных листьев из трех растений. Для биохимических анализов использовали листья из 9-11 растений. Для цитохимического изучения локализации и распределения лигнина в клеточных стенках использовали метод Смита с использованием флуорохрома ауремина-О [Smith et al., 1986]. Материал исследовали в лазерно сканирующем конфокальном микроскопе LSM5 (Germany). Относительное количество лигнина в клеточных стенках определяли с помощью программы PASCAL. Общее содержание лигнина, целлюлозы и гемицеллюлоз определяли по стандартным протоколам [Арасимович, Ермаков, 1987].

**Результаты и обсуждение.** Цитохимический анализ лигнина в надводных стреловидных листьях *S. sagittifolia* показал ярко желтую флуоресценцию комплекса лигнин-ауремин в клеточных стенках эпидермиса и мезофилла (рис. 1, а, б). Уровень интенсивности люминесценции зависел от ткани. Интенсивность люминесценции была наивысшей в клеточных стенках замыкающих клеток устьиц и в стенках основных клеток адаксиального эпидермиса: в периклинальных стенках она составляла  $83 \pm 7$ , в антиклинальных стенках -  $160 \pm 11$  отн. ед. (рис. 1, в), в стенках пор устьиц –  $171 \pm 14$  отн. единиц, соответственно. Слабая интенсивность люминесценции лигнина отмечена в клеточных стенках столбчатого и губчатого мезофилла ( $55 \pm 3,2$  и  $34 \pm 2,1$  отн. единиц, соответственно).

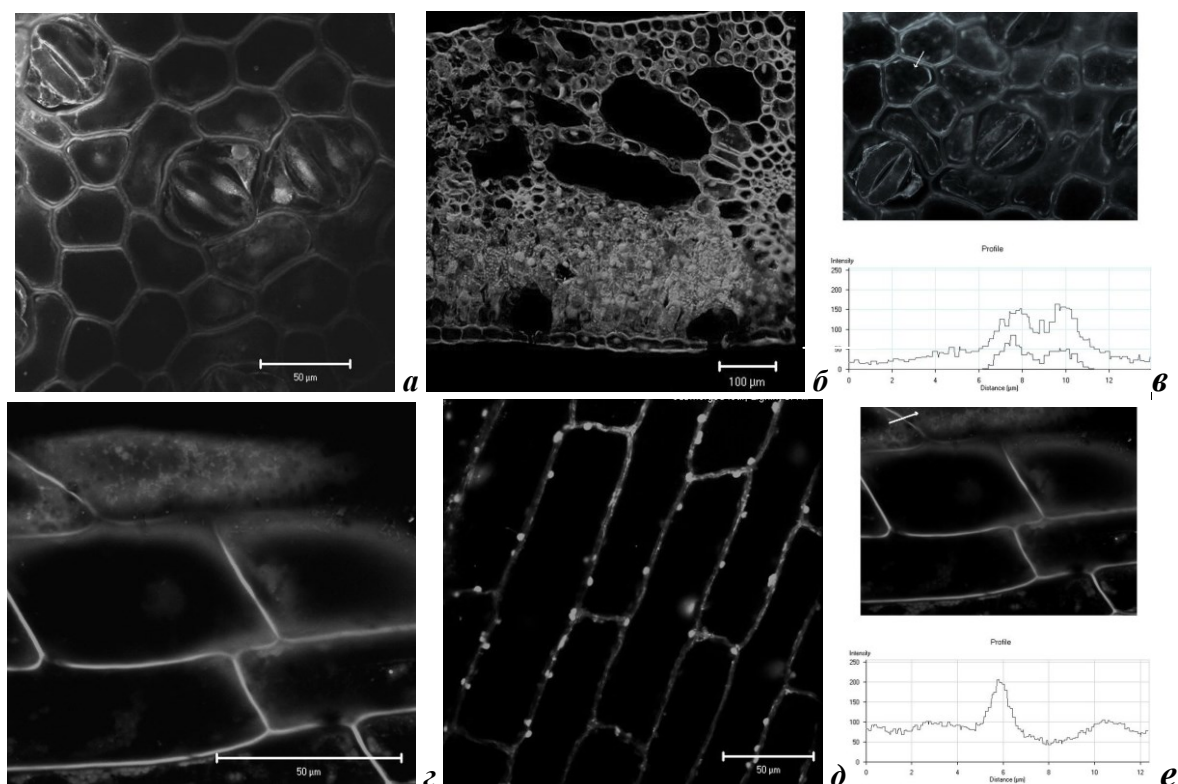
В подводных листьях люминесценция комплекса лигнин-ауремин была ярко желтой и выявлялась в клеточных стенках эпидермиса и фотосинтезирующей паренхимы (рис. 1, г, д). В антиклинальных и периклинальных клеточных стенках эпидермиса подводных листьев, в которых устьица отсутствовали, относительное содержание лигнина было 1,5-2,2 раза выше, чем у надводных листьев (рис. 1, е). Относительное содержа-

ние лигнина в клеточных стенках фотосинтезирующей паренхимы достоверных отличий не выявило при сравнении с таковым в надводных листьях. Кроме этого, абсолютное количество пикселей в люминесцирующем лигнине подводных листьев было на порядок выше, чем в эпидермисе надводных листьев (гистограммы не поданы).

Биохимический анализ содержания полисахаридов в листьях стрелолиста обыкновенного показал, что условия затопления вызывают увеличение содержания лигнина и гемицеллюлоз, а также снижение содержания целлюлоз в листьях (таблица 1).

Таким образом, нами установлено, что естественное затопление вызывает увеличение лигнина в клеточных стенках эпидермиса подводных листьев стрелолиста обыкновенного. Подобный феномен описан в подводных стеблях *Ludwigia repens* [Little, 2003]. Почему это происходит? Известно, что лигнин – это высоко разветвленный полимер, состоящий из фенилпропаноидных компонентов (монолигнинов), синтез которых зависит как от эндогенных, так и экзогенных факторов, включая изменения окружающей температуры, освещенности, влияния патогенных грибов и микроорганизмов [Moura et al., 2010].

Подводные листья, лишённые трихом, устьиц и толстой кутикулы, становятся уязвимыми и для окружающих патогенов и водорослей, барьером для которых в листьях мезофитов, как известно, является лигнин [Hano et al., 2006]. Кроме этого, на подводные листья и стебли растений влияют и физико-химические факторы окружения (давление воды и волн, снижение освещенности и изменение ее спектральной характеристики) [Недуха, 2011]. Очевидно, что для оптимального функционирования затопленных органов необходим усиленный синтез лигнина в эпидермальных клетках листьев и стеблей.



**Рис. 1.** Микрофотографии цитохимической флуоресценции лигнина в клеточных стенках надводных (рис. а, б) и подводных листьев (рис. в, д) *Sagittaria sagittifolia*. На рис. в и е – гистограммы интенсивности флуоресценции лигнина и хлорофилла; ордината – интенсивность флуоресценции (отн. единицы), абсцисса – расстояние (мкм), которое просканировано в фрагментах клеток.

Вопрос об эндогенных механизмах регуляции такого процесса, включая активацию

ферментов синтеза монолигнолов (пероксидазы, фениламоний-лиазы, шинамат-4-гидроксилазы, и 4-кумарат-коэнзим-А-лигазы) [Boerjan et al., 2003] в затопленных органах остается открытым и требует дальнейшего исследования.

Таблица 1

Содержание полисахаридов в листьях *Sagittaria sagittifolia*

Полисахарид, мг/гр. сухого веса	Надводные листья	Подводные листья
Лигнин	25 ± 3,1	58 ± 4,9*
Целлюлоза	86 ± 5,9	71 ± 3,7*
Гемицеллюлозы	357 ± 11	397 ± 12*

\*-  $P < 0,05$

Литература

- Арасимович А.А., Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений. Ред. А.И. Ермаков. – Л.: ВО Агропромиздат, 1987. – С. 143-172.
- Недуха О.М. Гетерофілія у рослин. – Київ: Альтерпрес, 2011. – 191 с.
- Boerjan W., Ralph J., Baucher M. 2003. Lignin biosynthesis // Ann. Rev. Plant Biol. – 2003. – Vol. **54**. – P. 519-546.
- Hano C., Addi M., Bensaddek L., et al. Differentiation accumulation of monolignol-derived compounds in elicited flax (*Linum usitatissimum*) cell suspension cultures // Planta. – 2006. – 2006. – Vol. **223**. – P. 975-989.
- Jackson M.B., Colmer T.D. Response and adaptation by plants to flooding stress // Ann Bot. – 2005. – Vol. **96**. – P. 501-505.
- Little S.T. Adaptation and acclimation of populations of *Ludwigia repens* to growth in high- and lower CO<sub>2</sub> spring. A Dissertation presented to the Grad. school. Univ. Florida. USA. 2003, P. 1-157.
- Moura J.C., Bonine C., Viana J. et al. Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants // J. Integr. Plant Biol. – 2010. - Vol. **52**. – P. 360-376.
- Nedukha O. Epidermis leaf structural responses of some aquatic plants to constant water environment // Adv of Agricult Sciences. – 2010. – Issue **545**. – P. 169-178.
- Rose-John S., Kende H. Effect of submergence on the cell wall composition of deep-water rice internodes // Plant Physiol. – 1984. – Vol. **76**. – P. 106-111.
- Smith C.A., Skvirsky R.C., Hirsch A. Histochemical evidence for the presence of a suberinlike compound in Rhizobium-induced nodules of the nonlegume *Parasponia rigida* // Can J Bot. – 1986. – Vol. **64**. – P. 1474-1483.

**АДАПТАЦИОННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ К ЗАСУХЕ СОРТОВ ЯБЛОНИ  
РАЗЛИЧНОЙ ПЛОИДНОСТИ**

Н.И. Ненько, Г.К. Киселева, А.В. Караваева, Е.В. Ульяновская

ГНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства,  
Краснодар, kubansad@kubannet.ru

Одним из приоритетных направлений в селекции яблони на юге России является создание сортов с высокой экологической пластичностью, устойчивых к лимитирующим факторам среды, в частности к летней засухе [Ненько, 2010].

Цель настоящей работы – провести оценку степени засухоустойчивости сортов

яблони различной ploидности по физиолого-биохимическим и анатомо-морфологическим параметрам для изучения адаптационных механизмов устойчивости яблони в условиях Северо-Кавказского региона.

Исследования проводили в 2012 г. на базе ЗАО ОПХ «Центральное», ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии, г. Краснодар. Объектами исследований служили листья яблони диплоидных сортов Рассвет, Фортуна (селекции СКЗНИИСиВ), Эрли Мак, Дейтон (Америка) и триплоидных сортов Союз, Родничок (селекции СКЗНИИСиВ).

Летний период 2012 года был аномально жарким и сухим, максимальная температура воздуха составляла 38,3°C; средняя температура воздуха 28,7°C, что на 4,7°C выше нормы, осадки составляли 0,3- 0,4 мм (2 % от нормы).

Для оценки устойчивости растений яблони в условиях летнего периода в листьях определяли содержание свободной и связанной воды, пролина, и пигментов [Ненько, 2012]. Микрообъекты изучали и фотографировали с помощью микроскопа «Olympus» ВХ 41 согласно методике [Киселева, 2012].

Проведенные исследования показали, что сорта яблони отличаются по анатомо-морфологическим параметрам листовой пластинки (табл. 1).

Наименьший индекс палисадности (отношение толщины палисадного к губчатому слою) отмечен у сорта Фортуна и равен 1,01; наибольший – у сорта Союз и равен 1,59. Чем больше индекс палисадности, тем более засухоустойчив лист. Биометрическая характеристика устьичного аппарата приведена в таблице 2.

**Таблица 1**

**Биометрические показатели листовой пластинки сортов яблони различной ploидности в летние месяцы вегетационного периода 2012 года**

сорт	параметры листовой пластинки (мк)			
	общая толщина листовой пластинки	толщина палисадного слоя	толщина губчатого слоя	толщина верхнего эпидермиса
диплоиды (2n=2x)				
Рассвет	138,4	71,2	56,4	10,8
Фортуна	134,0	62,4	61,5	10,1
Эрли Мак	130,7	62,3	58,4	10,0
Дейтон	132,1	64,9	57,1	10,1
триплоиды (2n=3x)				
Союз	173,0	99,6	62,3	11,1
Родничок	174,1	98,9	64,2	11,0
НСР 0,95	19,9	17,2	3,02	0,48

**Таблица 2**

**Биометрические показатели устьичного аппарата сортов яблони различной ploидности в летние месяцы вегетационного периода 2012 года**

сорт	длина устьиц, мк	ширина устьиц, мк	количество устьиц, шт/мм <sup>2</sup>
диплоиды (2n=2x)			
Рассвет	55	33	205
Фортуна	54	31	204
Эрли Мак	56	34	224
Дейтон	54	32	229
триплоиды (2n=3x)			
Союз	52	30	266
Родничок	53	28	278

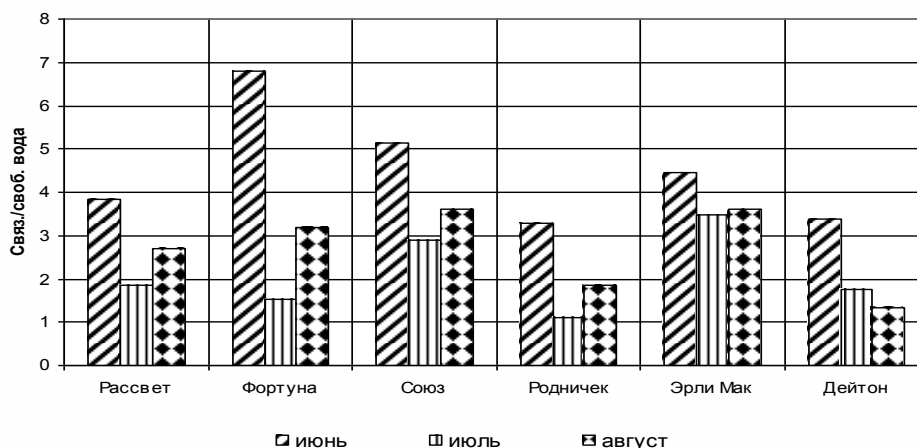


Количество устьиц варьировало от 204 штук на 1 мм<sup>2</sup> листовой поверхности у сорта Фортуна до 278 штук у сорта Родничок. Длина замыкающих клеток устьиц варьировала от 53 мк у сорта Союз до 56 мк у сорта Эрли Мак.

У триплоидных сортов яблони Союз и Родничок выявлены ксероморфные признаки листовой пластинки, связанные с засухоустойчивостью: увеличение толщины листовой пластинки, утолщение верхнего эпидермиса, увеличение толщины слоя клеток палисадной паренхимы, увеличение количества устьиц на единицу листовой поверхности, уменьшение линейных размеров устьиц.

Данные анатомо-морфологических исследований согласуются с данными физиолого-биохимических исследований. У триплоидных сортов Союз и Родничок в отличие от диплоидных (Рассвет, Фортуна, Эрли Мак, Дейтон) оводненность тканей листа во время воздействия жары и засухи в летний период, снижается меньше. Содержание связанной воды у триплоидных сортов почти во все месяцы вегетационного периода больше, чем у диплоидных (рис.1).

В период засухи у триплоидных сортов Союз и Родничок отмечено повышенное содержание пролина, обладающего свойствами осмопротектора при адаптации. Так, у сорта Союз в августе содержалось 272,9 мг/кг пролина, а у сорта Родничок в июне 99,2 мг/кг. У диплоидных сортов отмечено пониженное содержание пролина в течение летнего периода вегетации. У сорта Рассвет в июле содержалось 21,60 мг/кг пролина, у сорта Эрли Мак в августе пролина содержалось 12,9 мг/кг.

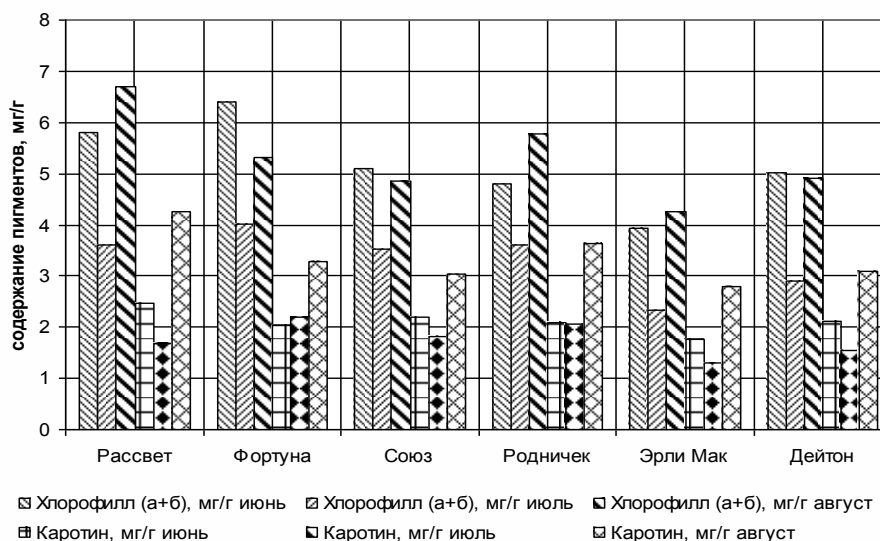


**Рис. 1. Динамика соотношения содержания связанной и свободной форм воды в листьях яблони различной плоидности, 2012 г.**

Таким образом, способность накапливать пролин во время засухи у триплоидных сортов яблони является генетически обусловленным признаком. Установлена положительная корреляционная зависимость между содержанием связанной формы воды и пролина. Коэффициент корреляции составлял: в июне –  $r=0,38$ ; в июле –  $r=0,52$ ; в августе –  $r=0,61$ .

Активность фотосинтетического аппарата яблони – один из параметров, наиболее чувствительных к высокотемпературному стрессу. Триплоидные сорта яблони Союз и Родничок проявляли более высокую фотосинтетическую активность во все месяцы летнего периода (рис.2).

В отличие от них изучаемые диплоидные сорта содержали меньше хлорофилла и больше каротиноидов. У триплоидного сорта Родничок сумма хлорофиллов **а** и **в** в августе составляла 5,78 мг/г на г сухого вещества, а каротина 3,63 мг/г на г сухого вещества. У диплоидного сорта Эрли Мак сумма хлорофиллов **а** и **в** в июле составляла 2,34 мг/г на г сухого вещества, а каротина 1,29 мг/г на г сухого вещества.



**Рис.2. Содержание пигментов в листьях сортов яблони разной плоидности.**

Таким образом, триплоидные сорта яблони Союз и Родничок обладают лучшей способностью адаптироваться к меняющимся условиям водоснабжения, чем изучаемые диплоидные сорта. У триплоидов отмечены меньшие отрицательные последствия после летнего периода и более быстрое восстановление физиологических функций после засухи, больше связанной воды, устойчивее пигментная система, высокая оводненность и водоудерживающая способность в условиях летних экстремальных температур, анатомо-морфологическими исследованиями выявлены признаки ксероморфной структуры листовой пластинки. Следовательно, увеличение плоидности растений, создание триплоидных форм могут привести к получению растений, более устойчивых к действию экстремальных условий среды.

#### Литература

Киселева, Г.К. Анатомо-морфологическая оценка адаптивного потенциала сортов плодовых культур и винограда. – Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве. - Краснодар, СКЗНИИСиВ, 2012.- С.199-205.

Ненько, Н.И. Физиологические методы в адаптивной селекции плодовых культур / Н.И. Ненько, Т.Н. Дорошенко, Т.А. Гасанова // Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве.- Краснодар, СКЗНИИСиВ, 2012.- С. 189-198.

Ненько Н.И. Физиолого-биохимические особенности адаптации яблони к засухе в интенсивных насаждениях в условиях Северо-Кавказского региона / Н.И. Ненько, Г.К. Киселева, А.В. Караваева, Т.В. Схалыхо, Ю.И. Сергеев / Расширенное заседание Ученого совета ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии по проблемам интенсивного садоводства, посвященное 100-летию со дня рождения Гавриила Владимировича Трусевица. - 6 июля 2010, Краснодар, СКЗНИИСиВ.- С. 92-97.

## ВЛИЯНИЕ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА СОДЕРЖАНИЕ ТИОЛОВЫХ ГРУПП В КОРНЕПЛОДАХ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ (*BETA VULGARIS L.*)

И.С. Нестеркина, Н.В. Озолина, Л.А. Ситнева, В.Н. Нурминский

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, nirinka24@mail.ru

Тиоловые соединения – биологически активные вещества, широкий спектр действия которых обусловлен наличием сульфгидрильных (–SH–) функциональных групп, отличающихся высокой реакционной способностью [Торчинский, 1971]. Установлено, что тиоловые соединения участвуют в ответе живых систем на геофизические, биологические и техногенные факторы окружающей среды [Соколовский, 2008]. Поэтому в настоящее время определение содержания тиоловых соединений является одним из методических подходов оценки неспецифической резистентности организма при стрессорных воздействиях [Соколовский и др., 1977; Дорожко, Короткова, 2010].

Цель исследования состояла в определении содержания тиоловых соединений в корнеплодах столовой свеклы при разных видах абиотического стресса.

В качестве объекта исследования использовали корнеплоды столовой свеклы (*Beta vulgaris L.*), сорт Бордо. Корнеплоды находились в фазе покоя и хранились при температуре 4 – 5°C. В экспериментах корнеплоды подвергали гипо- и гиперосмотическим стрессам. Для создания гипоосмотического стресса очищенные корнеплоды выдерживали в течение суток в дистиллированной воде. При этом виде стресса корнеплоды находились в воде в бескислородных условиях, следовательно, подвергались гипоксии. Гиперосмотический стресс получали путем выдерживания корнеплодов в течение 3–х суток на открытом воздухе при комнатной температуре. Так как при гипоосмотическом стрессе присутствует эффект гипоксии, то для сравнения был введен вариант гиперосмотического стресса с гипоксией. При этом стрессе в растворе 1М маннита выдерживали корнеплоды в течение суток. Осмоляльность оценивали на осмометре ОМ-КА 1Ц-01 (Россия).

Содержание SH-групп определяли в гомогенате и во фракции вакуолей выделенных из стрессированных корнеплодов. Выделение изолированных вакуолей проводили по описанной ранее методике [Салаяев и др., 1981]. Для определения суммарных тиоловых соединений использована реакция тиоловых групп с реактивом Элмана (5,5 – дитиобис (2–нитробензойная) кислота ДТНБ) [Ellman, 1959]. Измерение проводили при длине волны 412 нм на спектрофотометре U–1100 (Hitachi, Япония). Суммарное содержание белка определяли методом Bradford [Bradford, 1976]. Содержание небелковых SH-соединений оценивали по разнице между общим содержанием SH-групп в супернатанте и количеством SH-групп во фракции растворимых белков.

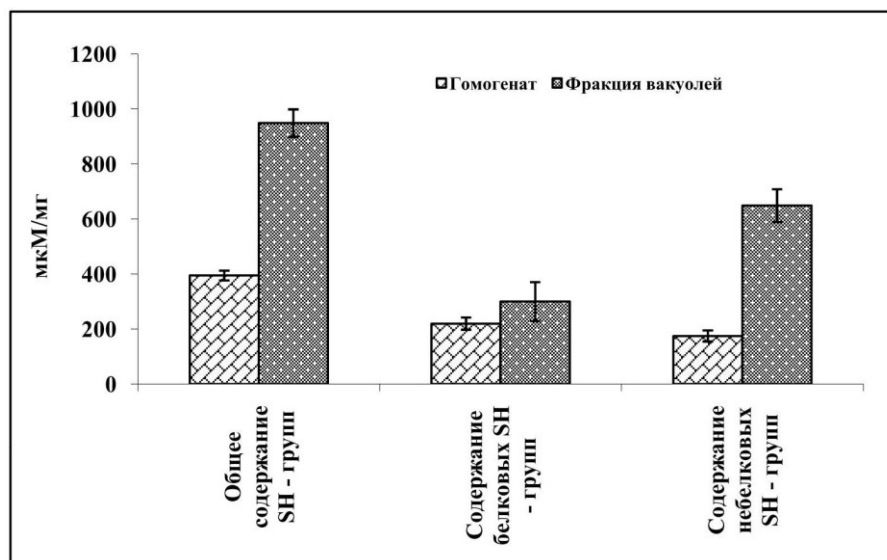
Установлено, что содержание тиоловых групп, в гомогенате корнеплодов меньше, чем во фракции изолированных вакуолей (рис. 1.).

Отмечено преобладание небелковых SH-групп, во фракции изолированных вакуолей в 3.7 раза по сравнению с гомогенатом корнеплодов. Возможно, это свидетельствует о большом содержании в вакуоли глутатиона. Так как глутатион является основным носителем небелковых SH-групп [Нагорная, Четверик, 2010].

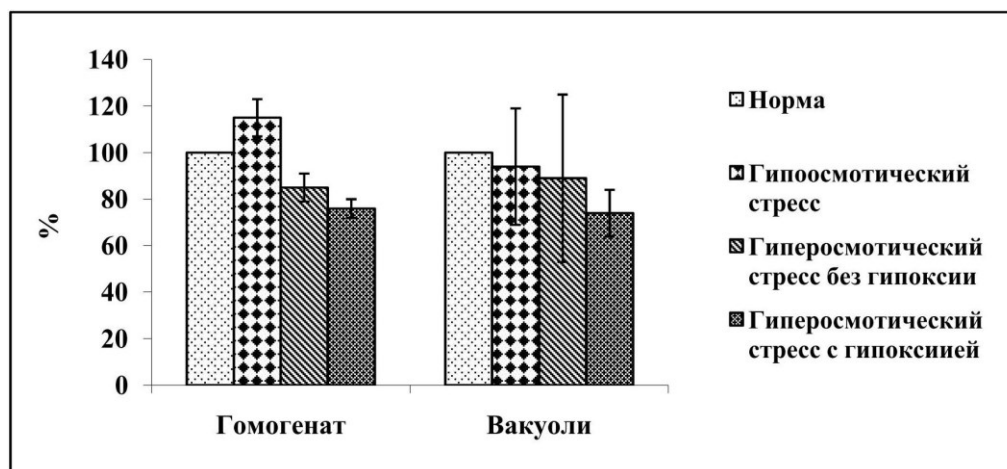
Основная часть работы состояла в изучение динамики содержания тиоловых групп при разных видах осмотического стресса. Отмечено что, в условиях стресса в гомогенате корнеплодов и во фракции изолированных вакуолей наблюдается тенденция к снижению общего содержания тиоловых групп, что говорит о влиянии стресса (рис.2.).

Так как, присутствующие в организме тиоловые соединения в первую очередь подвергаются действию активных кислородных радикалов, что предохраняет от их действия функциональные группы биологических молекул и клеточных мембран [До-

рожко, Короткова, 2010]. Однако в гомогенате корнеплодов подвергнутых гипосмотическому стрессу происходит небольшое увеличение (на 10%) общего содержания тиоловых групп (рис. 2.). Данное явление отмечалось некоторыми исследователями как результат увеличения активности тиол-зависимых защитных механизмов, в частности тиоредоксиновой системы при раке легкого [Белоногов и др., 2010].



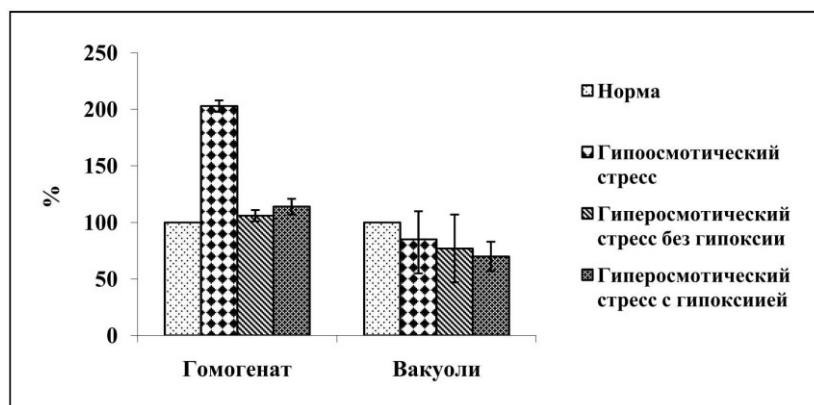
**Рис. 1. Содержание SH-групп (мкМ/мг белка) в гомогенате и во фракции изолированных вакуолей корнеплодов столовой свёклы в нормальных условиях.**



**Рис. 2. Общее содержание SH-групп (% от контроля) в гомогенате и во фракции изолированных вакуолей корнеплодов столовой свеклы в норме и в условиях стресса.**

Таким образом, по литературным данным, рядом исследователей был сделан вывод о том, что изменения в содержании суммарных тиоловых групп является показателем ответной реакции клеток на действие неблагоприятного фактора [Соколовский и др., 1977; Кучина, Мартынюк, 2004; Шлейкин и др., 2012].

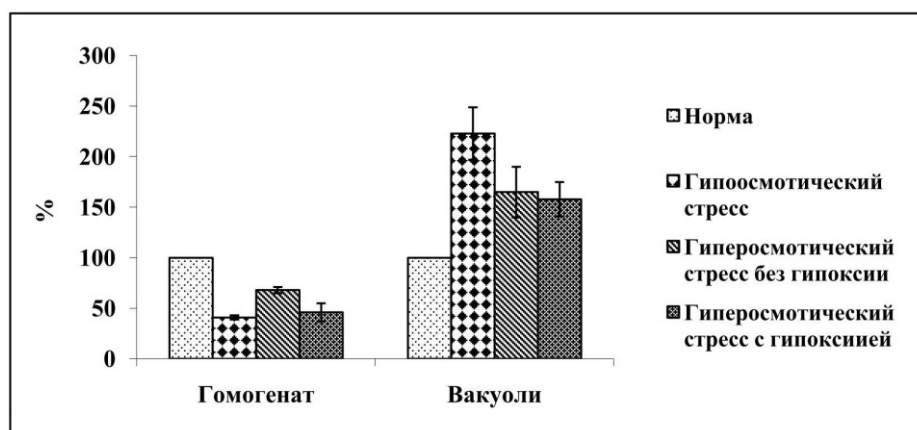
Далее оценивали содержание белковых и небелковых тиоловых соединений, по отношению к общему их содержанию, в гомогенате и во фракции изолированных вакуолей в норме и в условиях стресса. В условиях стресса наблюдается явление обратное тому, что отмечалось в норме (рис. 1.). А именно, в гомогенате корнеплодов во всех вариантах стресса происходило увеличение небелковых SH-групп, особенно это более выражено в стрессах сопровождаемых гипоксией (рис.3.).



**Рис. 3. Содержание небелковых SH-групп (% от контроля) в гомогенате и во фракции изолированных вакуолей корнеплодов столовой свеклы в норме и в условиях стресса.**

В то время как во фракции вакуолей отмечено преобладание белковых SH-групп, что наиболее выражено при гипоосмотическом стрессе (рис. 4.). Увеличение содержания белковых SH-групп в вакуоли может быть связано с перераспределением тиоловых соединений, что может свидетельствовать о роли вакуоли в антиоксидантной защите клетки.

Таким образом, в условиях осмотического стресса содержание тиоловых соединений в корнеплодах столовой свеклы меняется, что может быть использовано в качестве диагностики стресса.



**Рис. 4. Содержание белковых SH-групп (% от контроля) в гомогенате и во фракции изолированных вакуолей корнеплодов столовой свеклы в норме и в условиях стресса.**

#### Литература

Белоногов Р.Н., Титова Н.М., Дыхно Ю.А., Савченко А.А. Особенности редокс-зависимой модификации белков в эритроцитах больных немелкоклеточным раком легкого в зависимости от стадии заболевания // Сибирский онкологический журнал, 2010. – №6 (42).

Дорожко Е.В., Короткова Е.И. Исследование электрохимических свойств глутатиона методом вольтамперометрии // Известия ВУЗов. Химия и химическая технология, 2010. – № 2(53). – С. 118-124.

Кучина Н.Б., Мартынюк В.С. Влияние ПеМП со сложным спектром на процессы перекисного окисления и антиоксидантную систему в разных тканях у белых крыс // Таврический медико-биологический вестник, 2004. – №7(1). – С. 159-165.

Нагорная Н.В., Четверик Н.А. Оксидативный стресс: влияние на организм человека, методы оценки //Здоровье ребенка, 2010. – №2 (23).

Соколовский В.В. Тиолдисульфидная система в реакции организма на факторы окружающей среды. – СПб.: Наука. 2008.

Соколовский В.В., Белозерова Л.А., Огурцова Р.Е. Количественное определение тканевых дисульфидных групп обратным амперометрическим титрованием // Вопросы медицинской химии, 1977–№5.

Саляев Р.К., Кузеванов В.Я., Хаптагаев С.Б., Копытчук В.Н. Выделение и очистка вакуолей и вакуолярных мембран из клеток растений // Физиология растений, 1981. – №28. – С. 1295-1305.

Торчинский Ю.М. Сульфгидрильные и дисульфидные группы белков. – М.: Наука, 1971.

Шлейкин А.Г., Жилинская Н.Т., Кабанов А.В. Изучение тиоловых веществ в хлебопекарных дрожжах // Процессы и аппараты пищевых производств, 2012. – №1. – С.391-395.

Bradford D.P. A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilising the principal of protein-dye binding // Anal. Biochem., 1976. – №72. – С. 248-254.

Ellman G. Tissue sulfhydryl groups // Arc. Biochem. Biophys., 1959. – №82. – С. 70-77.

## ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА ЛИПИДОВ ГАЛОФИТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТРАТЕГИИ ГАЛОТОЛЕРАНТНОСТИ

В.Н. Нестеров, О.А. Розенцвет, Е.С. Богданова

Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, nesvik1@mail.ru

В Европейской части России общая площадь засоленных почв составляет около 23,3 млн. га [Хитров и др., 2009]. Экологическая реставрация, освоение деградированных пастбищных земель и засоленных почв являются составной частью программы устойчивого развития жизнеспособного сельского хозяйства Российской Федерации [Шамсутдинов и др., 2001]. В связи с этим, изучение физиолого-биохимических свойств галофитов является важным, как для понимания механизмов солеустойчивости, так и для применения полученных сведений в прикладных целях, поскольку галофиты используются в пищевых целях, а также в биоиндикации и регуляции процессов засоления почвы, фиторемедиации загрязненных (например, тяжелыми металлами) территорий [Lokhande, Suprasanna, 2012].

В устойчивости растений к засолению немалую роль играют липиды их клеточных мембран, которые участвуют в регуляции метаболизма и энергетики клетки. Предполагается, что молекулярно-генетические особенности галофитов формируют в какой-то степени и стратегию их солеустойчивости.

Среди галофитной растительности различают эвгалофиты, способные повышать осмотическое давление клеточного сока или уменьшать потребление воды, криногалофиты, выделяющие избыток соли на поверхность листьев, и гликогалофиты, исключающие проникновение солей через корневую систему [Строганов, 1962].

Цель исследования – изучить особенности состава липидов галофитов в зависимости от стратегии галотолерантности.

Объектами исследования были выбраны представители эвгалофитов – *Salicornia perennans* Willd., криногалофитов – *Limonium gmelini* (Willd.) O. Kuntze, гликогалофитов – *Artemisia santonica* L. Растения отбирали в первой половине дня в июне 2012 г. в устьевых участках рек, впадающих в соленое озеро Эльтон (Волгоградская обл.). Температура воздуха составила 30°C, освещенность – 61000 люкс. Экстракцию и анализ

липидов осуществляли по методическим рекомендациям Кейтса [Кейтс, 1975]. Анализ водной вытяжки из 100 г почвы проводился в сертифицированной лаборатории абиотических факторов в Институте экологии Волжского бассейна РАН.

Содержание солей в водной вытяжке из почвы менялось в зависимости от места сбора растений от 0,1 до 1,5 г/л. Было установлено, что, *S. perennans* произрастает в условиях более сильного засоления (0,6–1,5 г/л.), чем *L. gmelini* и *A. santonica* (0,1–0,9 г/л).

Содержание суммарных липидов (СЛ) в надземной части *S. perennans* составило 2,5–4,3, *L. gmelini* – 7,1–12,0 и *A. santonica* 15,5–20,8 мг/г сыр. массы. Кроме СЛ исследуемые виды растений различались по содержанию мембранных фосфо- (ФЛ), глико- (ГЛ) и запасных нейтральных липидов (НЛ). Отношение ГЛ/ФЛ возрастало в ряду *S. perennans* (1,3–3,0) < *L. gmelini* (2,1–3,0) < *A. santonica* (4,1–5,4). Наибольшее содержание НЛ было зафиксировано в надземной части *A. santonica* (4,6–9,7 мг/г), а наименьшее – в надземной части *S. perennans* (0,8–1,3 мг/г сыр. массы). Еще одной особенностью в содержании липидов растений было относительно высокие показатели отношения ФЛ/НЛ для *S. perennans* и *L. gmelini* – 0,8–1,1 и 0,9–1,1, соответственно, в сравнении с *A. santonica* – 0,2–0,4. Отношение ГЛ/НЛ для *S. perennans* составило 1,3–2,2, для *L. gmelini* – 2,0–4,0, для *A. santonica* 1,6–2,4.

Состав ГЛ был представлен моно-, дигалактозилдиацилглицеринами и сульфохинозилдиацилглицеринами. Состав ФЛ содержал фосфатидилхолины, фосфатидилэтаноламины, фосфатидилглицерины, фосфатидилинозиты, фосфатидные кислоты и дифосфатидилглицерины. В составе НЛ были обнаружены триацилглицерины, свободные жирные кислоты, свободные стерины, эфиры стеринов, диацилглицерины, спирты и воски. Несмотря на то, что качественный состав липидов был идентичным для всех трех видов растений, в количественном отношении содержание индивидуальных липидов отличалось в некоторых случаях в 2 и более раз.

Таким образом, в надземной части крionoгалофита *L. gmelini* и гликогалофита *A. santonica* суммарных липидов содержится больше, чем у эвгалофита *S. perennans*. Отношения ГЛ/ФЛ, ФЛ/НЛ, ГЛ/НЛ свидетельствуют о различии данных видов растений в регуляции метаболизма и энергетики клетки.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 12-04-0111-а.*

#### Литература

Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов. – М.: Мир, 1975. – 322 с.

Строганов Б. П. Физиологические основы солеустойчивости растений (при разном качественном засолении почвы) / Под ред. Б. П. Строганова. – М.: АН СССР, 1962. – 336 с.

Хитров Н.Б., Рухович Д.И., Калинина Н.В. и др. Оценка площадей засоленных почв на территории Европейской части России (по электронной версии карты засоленных почв масштаба 1 : 2.5 млн.) // Почвоведение, 2009. – №6. – С. 627-637.

Шамсутдинов З.Ш., Савченко И.В., Шамсутдинов Н.З. Галофиты России, их экологическая оценка и использование. – М.: ООО Эдель-М, 2001. – 399 с.

Lokhande V.H., Suprasanna P. Prospects of Halophytes in Understanding and Managing Abiotic Stress Tolerance. In: Ahmad P., Prasad M.N.V. (eds.), Environmental adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change. Springer science + Business Media, 2012, p. 29-56.

## ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ И КОРМОВАЯ ЦЕННОСТЬ *EQUISETUM VARIEGATUM*, *E. SCIRPOIDES* И *E. ARVENSE*

В.В. Нохсоров<sup>1</sup>, А.В. Столбикова<sup>2</sup>, В.А. Чепалов<sup>1</sup>,  
Н.А. Соколова<sup>2</sup>, А.А. Перк<sup>1</sup>, Л.В. Дударева<sup>2</sup>, К.А. Петров<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, NohVasyaVas@mail.ru

<sup>2</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск

Все большее внимание в последнее годы уделяется способности растений адаптироваться к неблагоприятным факторам окружающей среды, таким как низкие температуры, засуха, засоление почв и др., а также биохимическим механизмам такой адаптации. Известно, что при адаптации растений к низким температурам в клетках существенно изменяется состав липидов. При этом в тканях значительно увеличиваются липиды, и особенно фосфолипиды. Также воздействие низких температур обычно связано с увеличением ненасыщенности жирных кислот (ЖК) липидов. Чем выше ненасыщенность ЖК, тем подвижнее ее молекулы. Этот адаптивный механизм направлен на поддержание функционального состояния мембран. В частности, закаливание приводит к изменению уровней ненасыщенности ЖК в мембранах холодоустойчивых растений, что не допускает переход липидов в гексагональную упаковку, и они остаются в жидкокристаллическом состоянии [Войников, 2011].

Особый интерес представляют исследования, связанные с изучением жирнокислотного состава одно- и многолетних кормовых травянистых растений Якутии. Существует представление, согласно которому устойчивость растительного организма к низкотемпературному стрессу приводит к формированию кормовой ценности растений в результате накопления в их клетках питательных (белки, углеводы, липиды), а также других низко- и высокомолекулярных антиоксидантов. Многие из этих веществ не синтезируются в организме травоядных животных. Они поступают с растительным кормом [Петров и др. 2011].

Отава и большинство осенневегетирующих травянистых растений, в том числе хвощи, подвергаясь закаливанию, сохраняются до глубокой осени в зеленом виде и в таком состоянии уходят под снег. Поэтому в Якутии широкое распространение получило понятие – зимнезеленые нажировочные травянистые растения, являющиеся зимним тебеневочным кормом для многих травоядных животных [Петров и др. 2011].

Объектами исследования служили 3 вида хвощей разной кормовой ценности, произрастающих в условиях Якутии: *Equisetum variegatum*, *E. scirpoides* и *E. arvense*. Первые два вида являются зимнезелеными и служат ценным нажировочным кормом для травоядных животных, последний – ограниченно может использоваться только в летний период. Экстракцию липидов исследуемых объектов проводили с использованием системы растворителей хлороформ-метанол-вода (1:2:0,8 v/v/v). Для удаления хлороформа из экстракта липидов использовали роторный испаритель RVO-64 (Чехия). Для получения метиловых эфиров жирных кислот к экстракту липидов после удаления растворителя добавляли 1% метанольный раствор H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и нагревали на водяной бане при 60°C в течении 30 мин. После охлаждения метиловых эфиров жирных кислот трижды экстрагировали гексаном. Анализ полученных метиловых эфиров жирных кислот проводили методом газожидкостной хроматографии с использованием хромато-масс-спектрометра 5973/GC 6890N MS/DS Aligent – Technology. Капиллярная колонка HP-INNOWAX (30м x 250мкм x 0.50 мкм), градиент температуры: от 100°C до 150°C со скоростью 10°C в мин от 150°C до 255°C со скоростью 3°C в мин. Для расчета эквивалентной длины цепи использовали изократический режим, температура колонки 200°C. Газ-носитель – гелий, скорость потока газа 1 мл/мин. Масс-спектрометр – квадруполь,



способ ионизации – электронный удар (EI) (энергия ионизации 70эВ). Для идентификации метиловых эфиров жирных кислот липидов растений использовали значения индекса ECL (эквивалентной длины цепи), библиотеку масс-спектров NIST’05, а также сравнение времен удерживания со временами удерживания стандартных соединений. Для характеристики ненасыщенности применяли индекс двойной связи (ИДС) и коэффициент ненасыщенности (К). Активность ацил-липидных мембран  $\omega_9$ ,  $\omega_6$  и  $\omega_3$  десатураз, отвечающих за введение двойных связей в углеводородные цепи олеиновой, линолевой и  $\alpha$ -линоленовой ЖК, рассчитывали как стероил- (SDR), олеил- (ODR) и линолеил- (LDR) десатуразные отношения.

Из представленных данных видно, что высокая степень ненасыщенности жирных кислот всех изученных видов растений обусловлена, в основном, двумя кислотами – линолевой C18:2(n-6) и  $\alpha$ -линоленовой C18:3(n-3) (табл.).

Статистически достоверно высокий уровень линоленовой кислоты C18:3(n-3) наблюдался у *E. arvense*; он был на 8,2% и 14,3% выше, чем у *E. variegatum* и *E. scirpoides* соответственно. Напротив, самое большое количество линолевой кислоты C18:2(n-6) найдено у *E. scirpoides*. Ее относительное содержание было выше, чем у *E. variegatum* на 12,0%. Меньше всего этой ЖК содержалось в надземной части *E. arvense*. Известно, что именно повышенное содержание диеновых и триеновых кислот 18:2 $\omega_6$  и 18:3 $\omega_3$  осуществляет биохимическую адаптацию растений к низкой температуре. Судя по вычисленным коэффициентам ODR и LDR, активность соответствующих десатураз ( $\omega_6$  и  $\omega_3$ ) также имела более высокий уровень у представленных видов, особенно активность ODR у *E. arvense* и *E. scirpoides*.

Таблица

Содержание ненасыщенных жирных кислот  
в надземной части хвощей Якутии

Виды растений	<i>Equisetum arvense</i> (лето, 2012)	<i>Equisetum variegatum</i> (лето, 2012)	<i>Equisetum scirpoides</i> (лето, 2010)
Жирные кислоты	сод. (вес % от суммы ЖК)	сод. (вес % от суммы ЖК)	сод. (вес % от суммы ЖК)
C16:1(n-9)	1,51 ± 0,66	1,70 ± 0,12	1,43 ± 0,10
C16:1(n-7)	1,80 ± 0,27	0,73 ± 0,18	-
C16:2(n-6)	0,58 ± 0,03	1,02 ± 0,06	1,18 ± 0,06
C16:3(n-3)	7,91 ± 0,54	6,24 ± 0,19	5,64 ± 0,40
C18:1(n-9)	3,72 ± 0,41	5,24 ± 0,95	3,63 ± 0,17
C18:1(n-7)	0,49 ± 0,10	0,54 ± 0,07	-
C18:2(n-6)	8,15 ± 0,33	11,33 ± 0,56	12,88 ± 1,41
C18:3(n-3)	43,21 ± 1,50	39,65 ± 1,08	37,05 ± 1,73
C20:1(n-9)	0,32 ± 0,05	0,27 ± 0,07	0,22 ± 0,11
C20:3(5,11,14)	0,98 ± 0,24	1,92 ± 0,35	-
C20:3(11,14,17)	-	-	0,32 ± 0,02
C20:4(5,11,14,17)	2,29 ± 0,32	2,35 ± 0,38	1,86 ± 0,20
Σ насыщенных ЖК	29,23	29,01	34,64
Σ ненасыщенных ЖК	70,77	70,99	65,36
К	0,42	0,41	0,53
ИДС	1,91	1,86	1,75
SDR	0,61 ± 1,44	0,71 ± 3,13	0,67 ± 0,04
ODR	0,93 ± 0,84	0,91 ± 1,67	0,93 ± 0,00
LDR	0,84 ± 0,94	0,78 ± 1,15	0,74 ± 0,01

Из ω9-жирных кислот у исследуемых растений обнаружены моноеновые кислоты: пальмитолеиновая C16:1(n-9), олеиновая C18:1(n-9) и эйкозаеновая C20:1(n-9). Самое большое содержание пальмитолеиновой и олеиновой кислот наблюдалось у *E. variegatum*, а эйкозаеновой кислоты C20:1(n-9) – *E. arvense*.

Также в надземной части хвощей впервые идентифицирована 5,11,14,17-эйкозатетраеновая кислота (C20:4). Содержание этой ЖК у *E. arvense* и *E. variegatum* находилось в пределах 2,3-2,4% от суммы ЖК, что существенно выше, чем у *E. scirpoides*. Четыре ненасыщенные связи в этой жирной кислоте могут существенно повышать устойчивость клеточных мембран к низким температурам.

Индекс ИДС – величина интегральная, характеризующая степень ненасыщенности ЖК, был максимальным у *E. arvense* и минимальным у *E. scirpoides*. Коэффициент ненасыщенности (К) у *E. scirpoides* превышал 0,5, а *E. arvense* и *E. variegatum* – чуть более 0,4.

Изучению кормовой ценности хвощей посвящены многие работы, проведенные еще в 1930-60 гг. Основные результаты этих исследований показали, что осенне-вегетирующие хвощи накапливали высокое содержание растворимых углеводов (от 9,0 до 14,5%). Вместе с тем, объяснить исключительно высокую наживочную способность, например, *E. variegatum* одними только углеводами невозможно [Потапов, 1967]. По нашему мнению, высокая питательность ценность ряда изученных видов хвощей обусловлена наличием в них высоконенасыщенной 5,11,14,17-эйкозатетраеновой кислоты.

#### Литература

Войников В.К. Митохондрии растений при температурном стрессе. – Новосибирск: Гео, 2011. – 161 с.

Петров К.А., Перк А.А., Осипова В.В. Криорезистентность и формирование кормовой ценности растений Якутии. – Якутск: Бичик, 2011. – 200 с.

Петров К.А., Перк А.А., Чепалов В.А., Охлопкова Ж.М. Особенности жирнокислотного состава некоторых растений Якутии в период формирования криорезистентности // Вестник СВФУ, 2011. – Т.8. – №2. – С. 26-30.

Потапов В.Я. Углеводы и лигнин в кормовых травах Якутии. – Москва: Наука, 1967. – 174 с.

### **ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕННОЙ ОСВЕЩЁННОСТИ**

Ю.В. Нурминская, Л.А. Максимова, Т.В. Копытина, А.Г. Еникеев

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, nurminskaya@sifibr.irk.ru

Особенности физиологии трансгенного растения в поколениях являются важным объектом для исследования. На данный момент имеется много данных о том, как такие растения реагируют на неблагоприятные факторы [Попов и др., 2005; Дёмин и др., 2008; Todakaetal., 2012 и др.]. Важным дополнением к исследованиям по этой теме является изучение того, как действие стрессирующего фактора влияет на стабильность развития трансгенных растений. Ранее установлено, что растения табака, трансформированные разоруженным штаммом *Agrobacteriumtumefaciens* 699 (без целевых генов), в нормальных условиях на протяжении нескольких поколений демонстрировали повышенные показатели роста, имели высокую стабильность развития [Нурминская,

2012].Предположили, что эффект связан с состоянием стрессового напряжения вследствие процедуры трансформации, которое привело к ускорению процессов роста и развития у трансформантов [Еникеев, 2008].В связи с этим возник вопрос о том, каковы будут изменения морфометрических параметров, прежде всего стабильности развития, у этих растений при воздействии стрессирующего фактора. В качестве стрессора выбрали повышенное освещение, так как предполагалось, что трансформанты могут быть более эффективными продуцентами, чем нормальные растения, в условиях избыточного освещения. Целью работы было изучение стабильности развития, длины стебля, площади листовой поверхности и интенсивности фотосинтеза в условиях избыточного освещения.

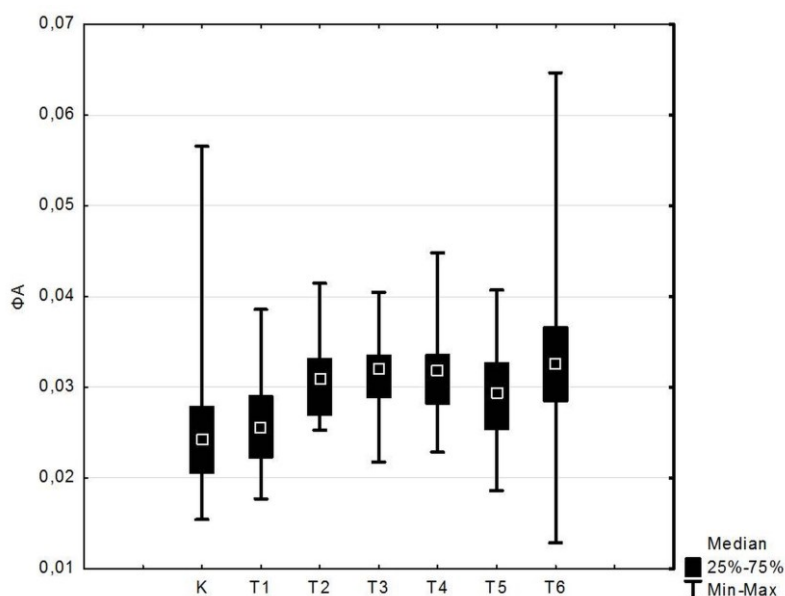
Трансгенные растения *Nicotianatabacum*L. (сорт Самсун) получали с помощью метода агробактериальной трансформации листовых дисков, для трансформации использовали обезоруженный штамм *Agrobacteriumtumefaciens*A699, содержащий вектор CNL 65 с геном *nptII*[Maximova, 2012].

Растения выращивали в условиях фитотрона(использовалась камера PlantMaster «CLFPlantClimatics», Германия): дневная температура +22°C, ночная +15°C; продолжительность светового дня16 часов.

Интенсивность фотосинтеза измеряли с помощью анализатора LCiLeafChamber/SoilRespirationAnalysisSystem (Великобритания) у первого, второго и третьего, считая сверху, листьев нормальных и трансформированных растений, в условиях нормального (140  $\mu\text{моль}/\text{м}^2/\text{с}$ ) и повышенного (700  $\mu\text{моль}/\text{м}^2/\text{с}$ ) освещения. Растения помещали в камеру на две недели в возрасте 72-х дней после посева.

Статистическую обработку результатов выполняли при помощи программ Excel 2007 и Statistica 6.0. Проводили описательную статистику, достоверность отличий оценивали с помощью теста Уилкоксона ( $p < 0,05$ ).Стабильность развития растений оценивали с помощью измерения флуктуирующей асимметрии (ФА) между двумя половинами листьев по [Захаров, 2000].

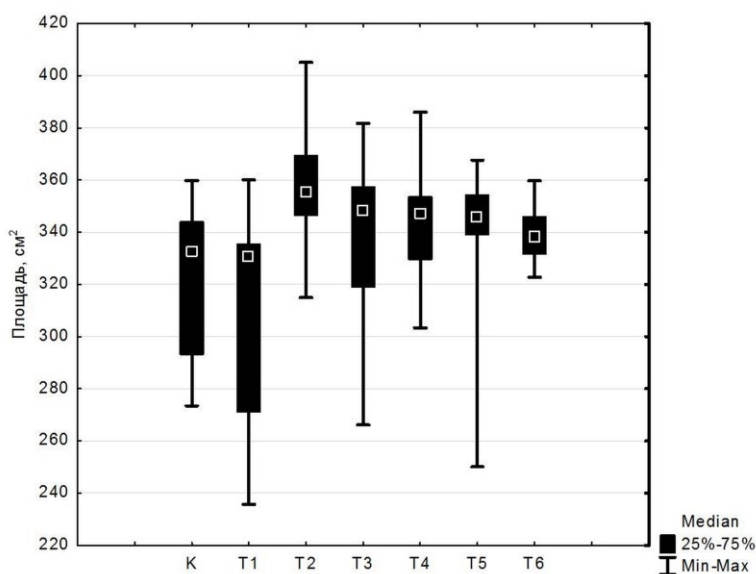
На рис. 1, можно увидеть, что в условиях повышенной освещённости трансгенные растения имели в целом более низкую стабильность развития по сравнению с контролем. Увеличение показателя флуктуирующей асимметрии свидетельствует о том, что воздействие стрессирующего фактора привело к возрастанию онтогенетического шума



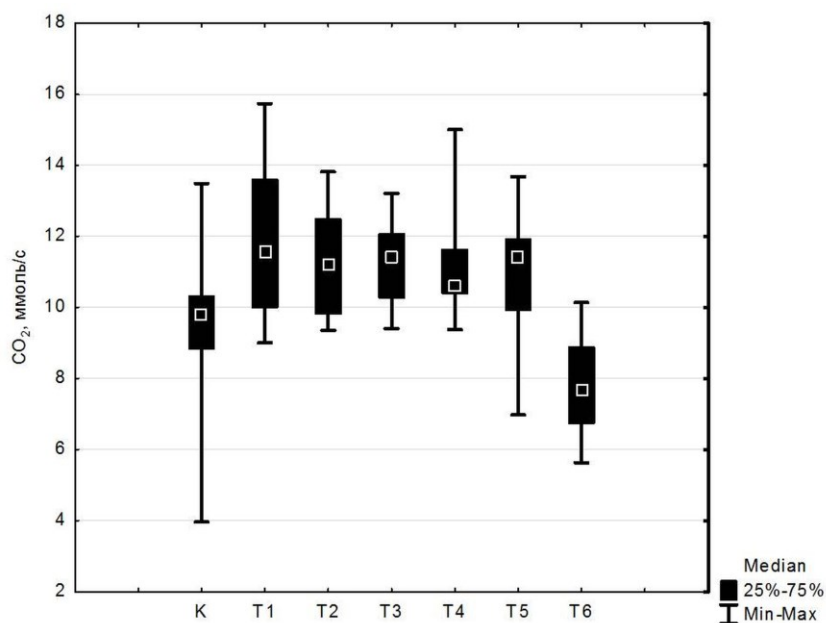
**Рис. 1** Показатель флуктуирующей асимметрии у контрольных (К) и трансформированных (Т<sub>1</sub>-Т<sub>6</sub>) растений табака в условиях повышенной освещённости.

у растений, при этом трансформанты оказались более восприимчивы к появлению неблагоприятного фактора. Возрастание показателя флуктуирующей асимметрии совпало с более сильным, по сравнению с контролем, укорочением стебля. В то же время снижение стабильности развития у растений со встроенной генетической конструкцией не сказалось на величине общей площади листовой поверхности и на фотосинтетической активности растений (рис. 2, 3). Рис 4 демонстрирует, что в нормальных условиях интенсивность фотосинтеза у трансформантов была несколько ниже, чем у контрольных растений. В случае трансгенных растений не было обнаружено зависимости между показателем стабильности развития – ФА – и показателем интенсивности фотосинтеза.

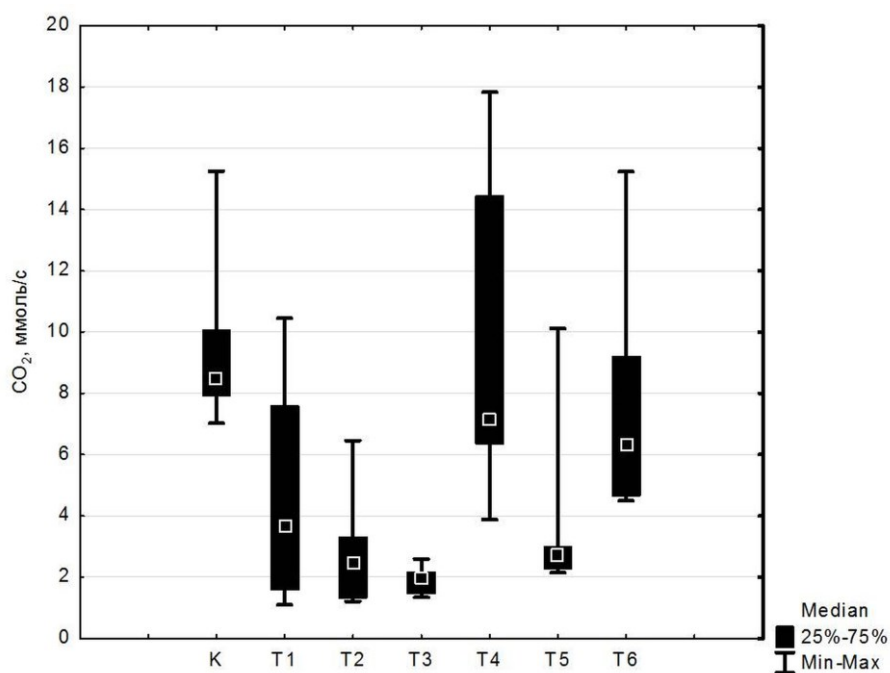
Таким образом, можно предположить, что изменения в метаболических процессах у трансформантов позволяют им более эффективно использовать световой ресурс в условиях повышенного освещения, чем в нормальных условиях.



**Рис. 2** Общая площадь листовой поверхности у контрольных и трансформированных растений табака в условиях повышенной освещённости.



**Рис. 3** Интенсивность фотосинтеза у контрольных и трансформированных растений табака в условиях повышенной освещённости.



**Рис. 4** Интенсивность фотосинтеза у контрольных и трансформированных растений табака в условиях нормальной освещённости.

#### Литература

Дёмин И.Н., Дерябин А.Н., Синькевич М.С., Трунова Т.И. Введение гена *desAΔ12*-ацил-липидной десатуразы цианобактерии повышает устойчивость растений картофеля к окислительному стрессу, вызванному гипотермией // Физиология растений. – 2008. – **55**, №5. – С. 710-720

Еникеев, А.Г., Копытина, Т.В., Семёнова, Л.А., Натяганова, А.В., Гаманец, Л.В., Волкова, О.Д. Агробактериальная трансформация как биотический стрессирующий фактор // Стресс-физиологии и биохимии растений. – 2008. - №4. – С. 11-15

Захаров В. М., Баранов А. С., Борисов В. И., Валецкий А. В., Кряжева Н. Г., Чистякова Е. К., Чубинишвили А. Т. Здоровье среды: методика оценки. - М.: Центр эколог. Политики России, 2000. – 68с.

Нурминская Ю.В. Выявление внутренней нестабильности генома трансгенных растений в ряду поколений. - Материалы межрегиональной научно-практической конференции молодых учёных «Экологические и медицинские проблемы Сибири» 1-2 марта 2012г. – С. 123-134

Попов В.Н., Орлова И.В., Кипайкина Н.В., Серебрянская Т.С., Меркулова Н.В., Носов А.М., Трунова Т.И., Цыденданбаев В.Д., Лось Д.А. Влияние трансформации табака геном  $\Delta 9$ -ацил-липидной десатуразы из *Synechococcus vulcanicus* на устойчивость растений к низкой температуре // Физиология растений. – 2005. – **52**, №5. – С.747-750

Maximova, L.A., Nurminskaya, J.V., Kopytina, T.V., Enikeev, A.G. Agrobacterium-mediated transformation of *Nicotiana tabacum* by disarmed strain At 699 resulted in considerable raising of growth and development of transgenic plants // Journ. of Stress Physiol. and Biochem. – 2012.– 1. – P. 138-148

Todaka D., Nakashima K., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Toward understanding transcriptional regulatory networks in abiotic stress responses and tolerance in rice // Rice. – 2012. - <http://www.theicejournal.com/content/5/1/6>

## АНТИОКСИДАНТЫ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ЗАКАЛИВАЮЩИХ И ПОВРЕЖДАЮЩИХ ТЕПЛОВОМ И ОСМОТИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

А.И. Обозный, Ю.Е. Колупаев, Н.В. Швиденко, Т.О. Ястреб

Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева,  
Харьков, Украина, plant\_biology@mail.ru

В последние годы накапливаются экспериментальные данные, свидетельствующие о существенной роли антиоксидантной системы в проявлении эффектов перекрестной устойчивости растений [Радюкина и др., 2012]. Наиболее реакционно способные радикальные формы активного кислорода удаляются низкомолекулярными антиоксидантами, супероксидный анион-радикал также обезвреживается с помощью фермента супероксиддисмутазы (СОД). В настоящее время значительное внимание уделяется роли так называемых неспециализированных антиоксидантов, для которых антиоксидантная функция не является основной [Колупаев и др., 2011]. Среди таких соединений особое место занимает пролин, который не только обладает способностью к перехвату свободных радикалов, но и участвует в регуляции активности антиоксидантных ферментов [Chen et al., 2005]. В то же время взаимодействие ферментативных антиоксидантов и низкомолекулярных протекторов при формировании перекрестной устойчивости растений к тепловому и осмотическому стрессам остается мало исследованным.

В настоящей работе изучено влияние кратковременных теплового и осмотического воздействий на активность ключевого антиоксидантного фермента СОД и содержание низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбиновой кислоты и пролина) в проростках пшеницы в связи с развитием их перекрестной устойчивости к повреждающим воздействиям.

**Материалы и методы.** Объектом исследования были этиолированные проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Элегия, выращенные на очищенной водопроводной воде при температуре  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ .

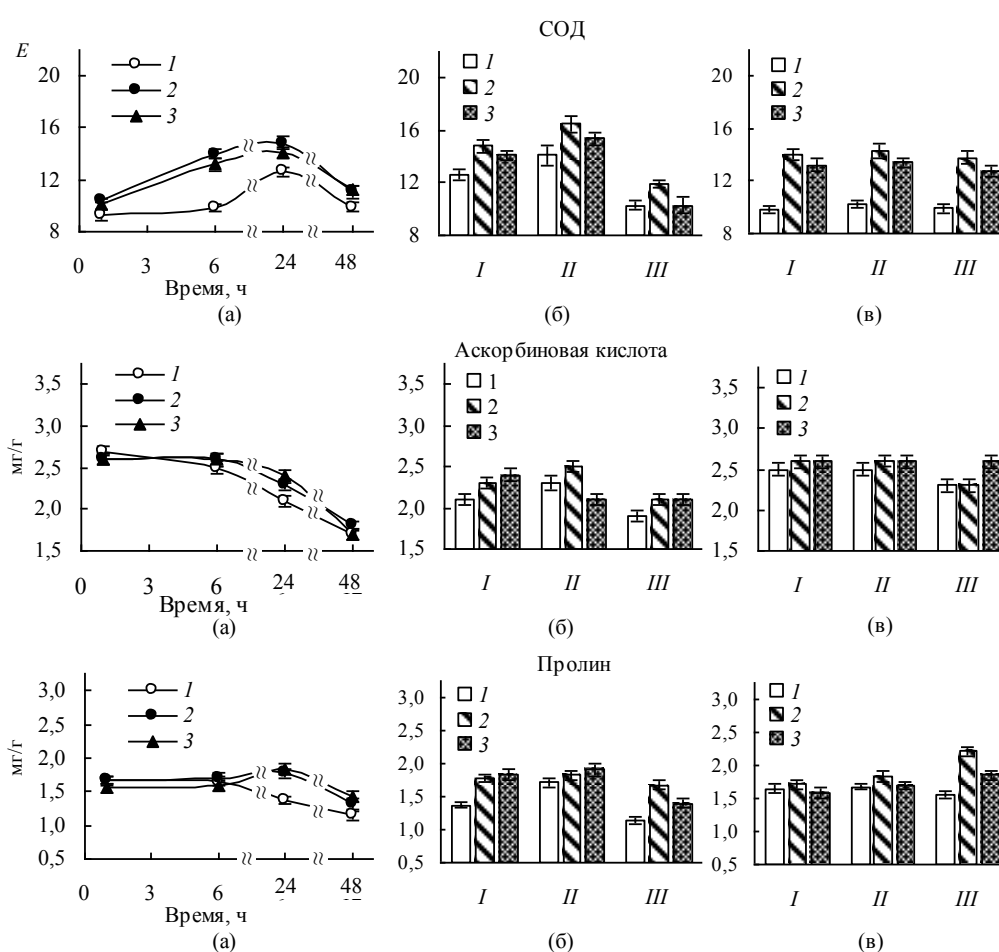
Четырехсуточные проростки подвергали закаливающим воздействиям – высокотемпературному (одноминутный прогрев в водном термостате при температуре  $42,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ) или осмотическому (погружение целых проростков в 1 М раствор сахарозы на 10 мин с последующим переносом в дистиллированную воду на 20 мин). Через определенные промежутки времени после закаливания проростки подвергали потенциально летальным воздействиям – тепловому (прогрев в водяном термостате при температуре  $45,5 \pm 0,1^\circ\text{C}$  в течение 10 мин) или осмотическому (погружение целых проростков в 1 М раствор сахарозы на 2 ч с последующим переносом на дистиллированную воду на 1 ч). В этом случае контролем служили проростки, погруженные на соответствующее время в очищенную водопроводную воду.

Активность СОД определяли по способности фермента конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные анионы, образующиеся вследствие аэробного взаимодействия НАДН и феназинметасульфата. Количество аскорбиновой кислоты в надземной части проростков определяли с использованием гексацианоферрата калия. Содержание пролина анализировали по Бейтсу.

**Результаты и обсуждение.** Через 1 ч после одноминутного закаливающего прогрева при температуре  $42,0^\circ\text{C}$  происходило снижение теплоустойчивости проростков, после чего наблюдалось постепенное ее повышение с максимумом через 24 ч после закаливающего прогрева, через 48 ч эффект закаливания немного уменьшался. Через 1 ч после закаливающего осмотического воздействия отмечалось существенное снижение теплоустойчивости, однако затем происходило постепенное ее повышение. Через 24 ч

после осмотического закаливающего воздействия наблюдалось достоверное повышение теплоустойчивости, повышенная по сравнению с контролем теплоустойчивость проростков сохранялась и через 48 ч наблюдений.

Устойчивость проростков контрольного варианта к осмотическому шоку уменьшалась через 24 ч и оставалась на таком же уровне через 48 ч наблюдений. Через 1 ч после закаливающего прогрева проростков при 42,0°C их устойчивость к осмотическому шоку снижалась, а через 6 ч происходило ее существенное повышение. Однако через 24-48 ч наблюдений происходило снижение устойчивости к осмотическому шоку проростков, закаленных прогревом. Через 1 ч после закаливающего осмотического воздействия наблюдалось снижение их осмоустойчивости, затем (через 6 ч) резистентность проростков заметно повышалась. К 24-48 ч наблюдений устойчивость проростков, подвергнутых предварительному осмотическому воздействию, несколько уменьшалась, хотя и превышала соответствующие значения контроля и варианта с тепловым закаливанием.



**Рис. Активность СОД ( $E$ , отн. ед./ $(\text{мг белка} \cdot \text{мин})$ ), содержание аскорбиновой кислоты и пролина ( $\text{мг/г}$  сухого вещества) в проростках пшеницы после закаливающих (а) и повреждающих теплового (б) и осмотического (в) воздействий. 1 – контроль; 2, 3 – соответственно тепловое и осмотическое закаливание. I – после закаливающих воздействий; II, III – соответственно через 3 и 24 ч после повреждающих воздействий.**

Активность СОД в контрольных проростках увеличивалась через 24 ч с последующим ее снижением к 48 ч до исходного уровня (рис.). В течение первых 6 ч после теплового закаливания она увеличивалась и оставалась стабильно повышенной до 24 ч,

а через 48 ч снижалась почти до величины соответствующего контроля. Через 6 и 24 ч после осмотического закаливания активность фермента также была значительно выше соответствующих величин в контроле.

В проростках контрольного варианта активность СОД через 3 ч после повреждающего прогрева достоверно не изменялась, а через 24 ч снижалась (рис.). В вариантах с тепловым и осмотическим закаливанием через 3 ч после повреждающего прогрева активность фермента несколько увеличивалась и превышала значения соответствующего контроля, а через 24 ч снижалась. Осмотический шок не вызывал значительных изменений активности СОД в проростках контрольного варианта. В образцах, подвергнутых тепловому или осмотическому закаливанию, после осмотического шока активность фермента также существенно не изменялась, но она была выше соответствующих значений контрольного варианта.

В контрольном варианте содержание аскорбиновой кислоты в течение 48 ч наблюдений постепенно уменьшалось. Через 24 ч после обоих типов закаливания оно было немного выше, чем в контроле (рис.). После теплового стресса этот показатель в образцах, подвергнутых предварительному тепловому закаливанию, был несколько выше, чем в контроле. Через сутки после осмотического стресса содержание аскорбата в побегах проростков, подвергнутых осмотическому закаливанию, было выше, чем в контроле и образцах, закаленных прогревом.

Через 24-48 ч после теплового и осмотического закаливания содержание пролина в побегах превышало значения контрольного варианта, которые наблюдались в этих временных точках. Более высокие значения содержания пролина отмечались в закаленных образцах и после осмотического и теплового повреждающих воздействий.

Таким образом, как тепловое, так и осмотическое закаливающие воздействия на проростки пшеницы повышали их устойчивость к соответствующим стрессорам и перекрестную резистентность. При этом на ранних этапах происходило индуцирование закаливающими воздействиями ферментативной составляющей антиоксидантной системы (СОД), а на более поздних – накопление низкомолекулярного протектора пролина. Более заметным было накопление пролина после осмотического шока, что можно объяснить его осмопротекторной функцией. В то же время накопление пролина в условиях действия осмотического шока индуцировалось предварительным закаливающим прогревом, что свидетельствует о перекрестных механизмах развития устойчивости к указанным стрессорам. Содержание аскорбиновой кислоты в побегах проростков пшеницы в условиях наших экспериментов после закаливания повышалось незначительно.

#### Литература

Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Обозный А.И. Антиоксидантная система растений: участие в клеточной сигнализации и адаптации к действию стрессоров // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2011. – Вип. 1 (22). – С. 6–34.

Радюкина Н.Л., Тоайма В.И.М., Зарипова Н.Р. Участие низкомолекулярных антиоксидантов в кросс-адаптации лекарственных растений к последовательному действию UV-B облучения и засоления // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 1. – С. 80-88.

Chen C., Dickman M.B. Proline Suppresses Apoptosis in the Fungal Pathogen *Colletotrichum trifolii* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2005. – V. 102, № 9. – P. 3459-3464.



## ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИДАЗЫ АПОПЛАСТНОГО И ЦИТОЗОЛЬНОГО КОМПАРТМЕНТОВ ПРИ ГИПЕРТЕРМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ПРОРОСТКИ ПШЕНИЦЫ

Л.Н. Олюнина<sup>1</sup>, В.П. Французова<sup>2</sup>, Н.М. Мещанинова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,  
Нижний Новгород, LNOLjunina@yandex.ru

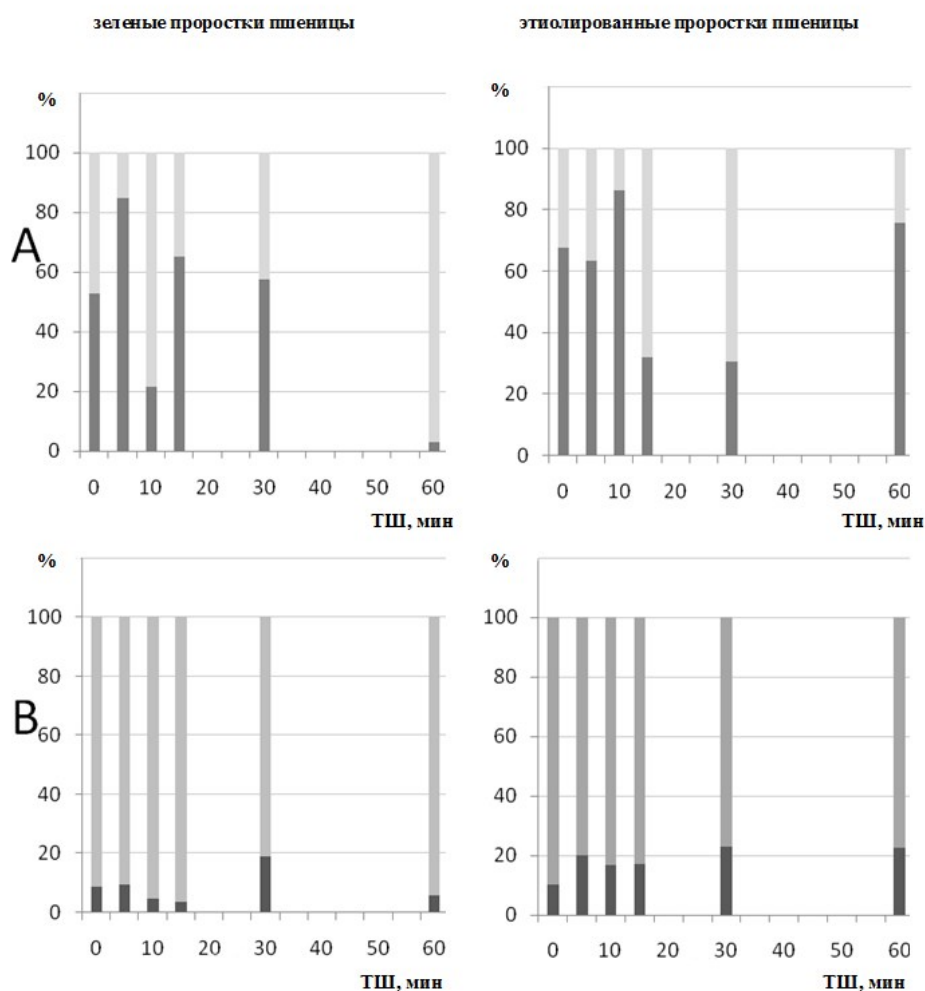
<sup>2</sup>Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, vpfrantsuzova@rambler.ru

Согласно современным исследованиям, активные формы кислорода (АФК) являются важным элементом механизма генерации и / или передачи стрессовых сигналов [ApeI, Hirt, 2004; Креславский и др., 2012]. Апопласт - физиологическая среда растений и любое внешнее воздействие может достичь живых клеток через это внутреннее поле, в котором локализованы первичные сенсоры стрессовых сигналов, работает механизм их декодирования и последующей трансдукции. Уровень АФК в апопласте зависит от активности ряда ферментов: аминоксидазы, оксалатоксидазы, НАДФН-оксидазы и пероксидазы III типа. Пероксидаза (ПО), имея различные функции (оксидазную и пероксидазную) может выступать как фактор, участвующий в элиминировании  $H_2O_2$ ; в других ситуациях - как источник кислородных радикалов [Минибаева, Гордон, 2003; Graskova et al, 2008]. Учитывая такую двойственность, ПО ферментная система представляется одним из наиболее вероятных участников клеточного сигналинга среди других АФК продуцирующих ферментов.

В качестве экспериментального подхода для доказательства этой роли ПО в наших исследованиях осуществлена сравнительная оценка изменений про- и антиоксидантной активностей пероксидазной ферментной системы в ответ на тепловой шок (быстрое повышение температуры с 22-25 до 42<sup>0</sup>С). Объектом исследования служили: апопласт-омывающий раствор (АОР) и цитозольная фракция, изолированные из 5-6 дневных зеленых (выращенных при 14-часовом фотопериоде) и этиолированных (выращенных в темноте) проростков яровой пшеницы сорта «Московская-35» (водные культуры). Апопластный раствор получали путем инфильтрации дистиллированной водой и последующей вакуумной фильтрации [Паду, 1995]; цитоплазматическую фракцию – экстрагируя растворимые белки 0,06 М фосфатным буфером (рН 8.0) в присутствии поливинилпирролидона. После центрифугирования и высаливания белков  $(NH_4)_2SO_4$ , во всех отдиализованных фракциях спектрофотометрическим методом определяли концентрацию гемсодержащих белков ( $\lambda_{403}$  нм), оксидазную (прооксидантную) активность ПО с субстратом НАДН ( $\lambda_{340}$  нм) и антиоксидантную, используя в качестве донора электронов бензидин ( $\lambda_{590}$  нм). На рис. представлены значения активности ПО в реакциях с НАДН и бензидином в процентах от суммы пероксидазно/оксидазной активности фермента. Активность изоформ ПО определяли после разделения белков методом нативного диск-электрофореза в полиакриламидном геле [Гавриленко и др., 1975], электрофореграммы обрабатывали с помощью программы ONE-DSCANE.

Известно, что растительные пероксидазы являются секретируемыми ферментами и могут транспортироваться наружу клетки или в вакуоль. Оценка распределения ПО активности между вне- и внутриклеточными компартментами этиолированных и зеленых проростков пшеницы, исследуемых в наших экспериментах, позволила выявить следующую закономерность. Повышенный уровень оксидазной активности ПО характерен для апопластного компартмента, в цитозоле соотношение про/антиоксидантной активности сдвинуто в сторону последней. Различие между зелеными и этиолированными проростками более выраженное при сравнении апопласт-омывающего раствора

(рис.1 А, В; контроль). Моделирование стрессовых условий (кратковременного теплового шока) индуцировало усиление смещения баланса в ПО ферментной системе в сторону увеличения оксидазной активности. При этом отмечена повышенная реактивность ПО системы апопласта: у зеленых проростков через 5 мин. после гипертермического воздействия доля оксидазной активности от суммы про/антиоксидантной увеличивалась до 84.7 %; в контроле (не подвергнутые ТШ проростки) составляла 53.0 %. У этиолированных проростков данная реакция зафиксирована позднее и увеличение составило меньший процент. Кроме того, в апопластном компартменте зеленых проростков при продолжающемся ТШ (60 мин.) происходило возрастание антиоксидантной функции ПО; у этиолированных проростков наблюдался вторичный всплеск увеличения оксидазной активности фермента (рис. 1, А).



Влияние теплового шока на изменение соотношения оксидазной (■ донор электрона - НАДФ) и пероксидазной (□ донор электрона - бензидин) активностей в апопластном (А) и цитоплазматическом (В) компартментах побегов этиолированных и зеленых проростков пшеницы

Для ПО ферментной системы внутриклеточного компартмента на фоне более слабых термозависимых модификаций оксидазной активности (рис. 1, В) отмечено сохранение высокой антиоксидантной активности ПО в ходе всего анализируемого периода развития реакции проростков пшеницы на ТШ. Однако и в этом компартменте у этиолированных проростков регистрируется повышенная по сравнению с зелеными про-

ростками пшеницы оксидазная активность ПО при 60-минутном ТШ.

В исследованиях, выполненных в нашей лаборатории (Томилин, 2011), были получены данные, согласно которым резкая смена светового режима инициирует изменения баланса про/антиоксидантной активности пероксидазной ферментной системы, а так же активности отдельных изоферментов в апопластном и цитозольном компартментах этиолированных 5-6 дневных проростков пшеницы. Анализ изменения спектра изоформ ПО в побегах этиолированных и зеленых проростков пшеницы в ответ на ТШ осуществлен и в данной серии экспериментов. Показано, что модификации ПО ферментной системы в процессе прогрева могут происходить за счет перераспределения в ионсвязанной/растворимой фракциях фермента. В частности, в условиях ТШ у зеленых проростков пшеницы зафиксировано снижение активности большинства изоформ в растворимой фракции и увеличение в связанной; у этиолированных – обратная реакция: снижение ионсвязанных и переход в растворимые формы. К числу наиболее значимых следует отнести изменение активности изоформ с  $R_f$  0.08, 0.16, 0.63 (ионсвязанная),  $R_f$  0.03, 0.16, 0.24, 0.67 (растворимая фракция ПО).

Суммируя полученные на данном этапе исследований результаты, возможно сделать следующие выводы. Общий ответ ПО ферментной системы: нарастание прооксидантной активности зафиксирован как при изменении светового режима, так и при гипертермическом воздействии, что свидетельствует в пользу его неспецифичности и позволяет рассматривать данную реакцию как маркер стресса. Кратковременное смещение про/антиоксидантного равновесия ПО системы в сторону прооксидантного в апопластном и слабые изменения в цитозольном компартментах зеленых проростков пшеницы могут расцениваться как индикация повышенной термоустойчивости данных проростков, по сравнению с этиолированными. Последний вывод совпадает с результатами оценки устойчивости зеленых и этиолированных проростков пшеницы, полученными в экспериментах с использованием кондуктометрического метода [Олюнина и др., 2009].

#### Литература

Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. – М: Высшая школа, 1975. - 327 с.

Креславский В.Д., Лось Д.А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов Вл.В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений, 2012. - №2. - С. 163-178.

Минибаева Ф.В., Гордон Л.Х. Продукция пероксида и активность внеклеточной пероксидазы в растительных клетках при стрессе // Физиология растений, 2003. - №3. - С. 459-464.

Олюнина Л.Н., Французова В.П., Томилин М.В., Веселов А.П. Модифицирующий эффект света на устойчивость проростков пшеницы к гипертермическому воздействию // Материалы Всероссийской научной конференции «Устойчивость организмов к неблагоприятным факторам внешней среды» 24-28 августа 2009 г., Иркутск, 2009. С. 331-334.

Паду Э.Х. Свойства пероксидазы и фенилаланин-аммиак-лиазы при образовании и лигнификации клеточных стенок стебля пшеницы // Физиология растений, 1995. - №3. - С. 408-415.

Томилин М.В. Пероксидазная ферментная система проростков пшеницы при развитии окислительного стресса в условиях смены светового режима // Автореф. дисс. канд. биол. наук. Нижний Новгород. 2011. 20 с.

Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // Annual review of plant biology, 2004. - V. 55. - P. 373–399.

Graskova I.A., Epova K.Y., Kusnetsova E.V., Kolesnichenko A.V., Voinikov V.K. Weak-associated with cell wall peroxidase during the root infection // Journal of stress physiology & biochemistry, 2008. - V. 4. - P. 4-10.

## ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ НА РЕАЛИЗАЦИЮ АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ

Л.В. Осипова<sup>1</sup>, Н.Т. Ниловская<sup>1</sup>, И.В. Верниченко<sup>2</sup>,  
Т.Л. Курносова<sup>1</sup>, И.А. Быковская<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГНУ ВНИИА им. Д.Н. Прянишникова, Москва, kurnosova\_t@mail.ru  
<sup>2</sup>РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва

Последние десятилетия характеризуются увеличением числа погодных аномалий, повышением аридизации климата, непредсказуемостью погоды в вегетационный период, что приводит к снижению стабильности и величины урожайности ярового ячменя. Одним из направлений повышения реализации адаптивного потенциала является регулирование минерального питания и учет сортовых особенностей ячменя.

В серии вегетационных опытов изучали формирование продуктивности двух сортов ярового ячменя в оптимальных условиях водообеспечения и при действии кратковременной почвенной засухи в зависимости от уровня питания. Для экспериментов был выбран широко районированный сорт Эльф и выращиваемый в зонах рискованного земледелия сорт Безенчукский 2. Содержание основных минеральных элементов варьировали от (NPK)0,5 до (NPK)2 мг каждого элемента на 100 г почвы. Засуху моделировали путем прекращения полива на VI этапе органогенеза. При достижении растениями влажности устойчивого завядания стресс прекращали. Сорта оценивали по состоянию пигментного комплекса, по восстановительной способности растений поглощать азот после стрессового воздействия. Для этого использовали метод изотопных индикаторов. После окончания стресса одновременно с отливом растений вносили высокообогащенный нитратный азот (95% <sup>15</sup>N в виде Ca(<sup>15</sup>NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). Доза вносимого меченного азота составляла 10 мг N на сосуд, что было менее 1% от азота, внесенного при закладке опыта. Такое же количество <sup>15</sup>N было одновременно внесено с поливными водами в контрольные варианты. Поступление <sup>15</sup>N в растения определяли через сутки, трое и семь суток. При уборке урожая оценивали продуктивность и ее структуру.

Результаты проведенных исследований показали, что в оптимальных условиях водообеспечения содержание хлорофиллов выше у сорта Эльф, что свидетельствует о лучшем развитии его фотосинтетического аппарата. Повышение обеспеченности минеральными элементами приводит к увеличению содержания хлорофиллов *a* и *b* в 2 раза у сорта Безенчукский 2 и в 1,2 раза у сорта Эльф. Сорт Безенчукский 2 более отзывчив на увеличение обеспеченности питанием, но листовая поверхность и другие элементы фотосистемы у сорта Эльф значительно больше.

У растений, находящихся в стадии устойчивого завядания, резко снижается содержание хлорофилла *a* и возрастает содержание хлорофилла *b*, что приводит к снижению отношения хлорофиллов и свидетельствует о достаточно хорошей устойчивости обоих сортов к факторам засухи.

Повышение фона питания не влияет на степень снижения хлорофилла *a* у сорта Безенчукский 2 и уменьшает ее у сорта Эльф. Содержание хлорофилла *b* у сорта Безенчукский 2 увеличивается на 15%, у сорта Эльф – на 49%. Суммарное содержание хлорофиллов во всех вариантах выше у сорта Эльф, то есть эффективность поглощения световой энергии фотосистемой выше, чем у сорта Безенчукский 2.

В оптимальных условиях водообеспечения характер поглощения меченного азота и включение его в белки надземной массы зависел от уровня минерального питания и сорта. На фоне (NPK)0,5 в первые сутки азот поступал и включался в белки более активно у обоих сортов. К концу седьмых суток экспозиции в растения ячменя сорта Безенчукский 2 поступает 38%, а сорта Эльф – 46% от внесенного с поливом азота. Повышение фона питания не влияет на активность поглощения  $^{15}\text{N}$  у сорта Безенчукский 2, но способствует увеличению его поступления в белки. Сорт Эльф наоборот, положительно реагирует на увеличение уровня минерального питания, активизируя поглощение  $^{15}\text{N}$ . Абсолютные величины поглощения  $^{15}\text{N}$  и поступившего в белки листьев и стеблей на всех уровнях питания выше у сорта Эльф.

Оценка восстановительной способности корневой системы после стрессового воздействия показала, что условия минерального питания влияли на скорость поступления  $^{15}\text{N}$  и включение его в белки. Повышенная обеспеченность NPK тормозила поглощение  $^{15}\text{N}$  в первые сутки у обоих сортов. У сорта Безенчукский 2 к концу экспозиции в растения поступило такое же количество  $^{15}\text{N}$ , как и в поливном варианте на обоих фонах питания. У сорта Эльф на фоне (NPK)0,5 засуха стимулировала поступление  $^{15}\text{N}$  и включение его в белки. На фоне (NPK)2 эти показатели были ниже поливного контроля. Общее количество  $^{15}\text{N}$ , поступившего в растения и включившегося в белки, как и в поливных вариантах, было выше у сорта Эльф.

Сорт Эльф лучше адаптирован к условиям произрастания, выдерживая кратковременный стресс в критический период онтогенеза и сохраняя высокую продуктивность на обоих фонах питания. Сорт Безенчукский 2 в оптимальных условиях водообеспечения более отзывчив на повышение фона питания, но резко снижает продуктивность при воздействии засухи. Повышение обеспеченности основными минеральными элементами снижало степень реализации адаптивного потенциала у сорта Безенчукский 2 и не влияло на этот показатель у сорта Эльф.

## ДЕЙСТВИЕ ИМПУЛЬСНОГО ДАВЛЕНИЯ НА КАЧЕСТВО СЕМЯН И ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ ГРЕЧИХИ

В.А. Павлова<sup>1</sup>, Е.Э. Нефедьева<sup>1</sup>, В.И. Лысак<sup>1</sup>, С.Л. Белопухов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Волгоградский Государственный Технический Университет, Волгоград, nefedieva@rambler.ru

<sup>2</sup>РГАУ-МСХА им. Тимирязева, Москва, belopuhov@mail.ru

Новые направления биотехнологии и биоинженерии растений призваны обеспечивать высокую урожайность и устойчивость растений, для чего, в частности, используются стимуляторы роста [Эльпинер, 1973; Савин, 1981; Будаговский, 2008]. Проблема стимулирующего действия малых доз до сих пор не решена окончательно, несмотря на многочисленные исследования [Кузин, 1995; Новицкий, 1987].

На растения действовали импульсным давлением (ИД) [Атрощенко, 1997], возникающим при распространении ударной волны, которая создает объемное сжатие в течение 14-25 мксек. Давление влияет на поглощение воды [Felix, 2000], флоэмный транспорт [Fensom, 1994], транспорт газов [Afreen, 2007], формирование сигналов [Паничкин, 2000], рост и развитие [Kwiatkowska, 2006]. ИД усиливает рост и продуктивность растений [Нефедьева, 2009], причем ИД 11 МПа стимулирует рост проростков гречихи, а ИД 29 МПа – ингибирует.

Семена гречихи (*Fagopyrum esculentum* Moench.) обрабатывали ИД 11 и 29 МПа. Проводили исследование флуоресценции при комнатной температуре (ФКТ) [Веселова, 2008]. Коэффициент корреляции между всхожестью и ФКТ составляет  $-0,94 \div -0,98$

[Веселова, 2008]. В партиях выделяют 3 фракции по мере возрастания ФКТ (I – семена, из которых вырастают нормальные проростки, II – семена, из которых вырастают проростки с морфологическими дефектами, III – преимущественно мертвые семена).

В контроле имелись максимумы в I и II фракциях. Распределение при ИД 11 МПа по  $\chi^2$  соответствовало контролю. При ИД 29 МПа пики смещены вправо, отмечен переход семян из I во II и из II в III фракцию. В контроле ФКТ и габитус проростка соответствовали. Несоответствие ФКТ и вида проростков – следствие активации роста семян II фракции при ИД 11 МПа и торможения роста [Веселова, 1993] при ИД 29 МПа. Показано [Веселова, 2008], что увеличить всхожесть можно только за счет живых семян, присутствующих в партии, но не мертвых или образующих дефектные проростки. Под действием большинства стимуляторов в дозах, увеличивающих всхожесть, часть семян фракции II переходила во фракцию I. Эти семена были названы «улучшенными» [Веселова, 2008]. При ИД 11 МПа был возможен переход семян из фракции II во фракцию I; на него указывали уменьшение количества семян II фракции и смещение вправо пика, соответствующего I фракции. Подобное явление подтверждается увеличением всхожести семян при действии ИД 11 МПа в партиях с незначительно сниженной всхожестью.

Изменение ФКТ и «улучшение» семян – явление преходящее, связанное с ускорением старения и накоплением повреждений [Веселова, 2008]. Организм не может длительно находиться в нестабильном состоянии, поэтому возвращается на прежний уровень или переходит в особое устойчивое состояние – стресс [Веселова, 1993]. При ИД 11 МПа развитие событий происходило по первому варианту, но для компенсации повреждений происходила активация роста, особенно у семян II фракции. При ИД 29 МПа у проростков происходил переход к стрессу, сопровождавшийся явлением «ростового покоя», который отмечен при различных воздействиях в стрессовых дозах [Веселова, 2008; Веселова, 1993].

Продуктивность растений определяется чистой продуктивностью фотосинтеза (ЧПФ) [Ничипорович, 1979]. У растений, обработанных ИД, ЧПФ несущественно превышала контроль или была ниже; одной из причин была трата веществ на формирование. ИД 11 МПа способствовало увеличению фотосинтетического потенциала – ФСП, накоплению сухой массы (СМ) растением в целом и его листьями. Эти реакции можно считать экстенсивными, поскольку отношение массы плодов к поверхности и массе листьев, сформированной в течение онтогенеза не увеличивалось относительно контроля. При ИД 29 МПа в связи с тем, что отношение массы плодов к поверхности и массе листьев, сформированной в течение онтогенеза превысило контроль, преобладал приток ассимилятов в плоды.

В фазу бутонизации общая СМ не изменялась при ИД 11 МПа и снижалась при ИД 29 МПа относительно контроля. Увеличилась СМ листьев при ИД 11 МПа. При ИД доля корней от общего СМ уменьшилась, но площадь ЭЖ возросла относительно контроля в 1,4-2,1 раза. В фазу цветения СМ стеблей увеличилась по сравнению с фазой бутонизации. СМ листьев при ИД 11 МПа была в 2,2 раза больше, чем в контроле. СМ соцветий увеличилась в 1,6-1,3 раза после ИД 11 и 29 МПа соответственно. Отмечено увеличение СМ листьев. В фазу плодоношения при ИД 11 МПа общая СМ увеличилась в 1,3 раза, СМ корней и листьев возросла в 2-3 раза, а СМ соцветий (продуктивность) увеличилась на 22,6% по сравнению с контролем. При ИД 29 МПа общая СМ не изменилась, но СМ стебля и листьев возросла на 50% и 27% соответственно по сравнению с контролем. СМ соцветий (продуктивность) увеличилась в 2,3 раза по сравнению с контролем. Доля хозяйственного урожая  $K_{хоз}$  в контроле составляла 20,35%, при ИД 11 МПа – 20,36%, при ИД 29 МПа – 43,16%, следовательно, эти растения преимущественно перемещали ассимиляты в соцветия. ИД 11 МПа способствовало равномерному накоплению СМ, не изменялась нормальная динамика интегральных процессов – роста

и распределения ассимилятов, но увеличилась их скорость, поэтому повышение урожайности было незначительным. Такую реакцию на воздействие называют гормезисом [Савин, 1981]. ИД 29 МПа привело к уменьшению общей СМ в течение онтогенеза, а увеличение массы соцветий и плодов было связано с медленным накоплением и перераспределением веществ в плоды. Исходя из изменений всхожести, эту зону можно назвать стрессовой.

#### Литература

Будаговский А.В. Теория и практика лазерной обработки растений. – Мичуринск-наукоград РФ, 2008.

Веселова Т.В. и др. Стресс у растений (Биофизический подход). – М.: Издательство Моск. университета, 1993. – 144 с.

Веселова Т.В. Изменение состояния семян при их хранении, проращивании и под действием внешних факторов, определяемое методом замедленной люминесценции: автореферат дис. ... докт. биол. наук. – М., МГУ, 2008. – 48 с.

Кузин А.М. Идеи радиационного гормезиса в атомном веке. – М.: Наука, 1995. – 158 с.

Нефедьева Е.Э., Лысак В.И. Давление как фактор регуляции у растений: моногр.– Волгоград: изд-во ВолгГТУ, 2009. – 188 с.

Ничипорович А.А. Энергетическая эффективность фотосинтеза и продуктивность растений. – Пушино-на-Оке, 1979. Эльпинер И.Е. Биофизика ультразвука.– М.: Наука, 1973.– 384 с.

Новицкий Ю.И. Реакция растений на магнитные поля // Реакция биологических систем на магнитные поля : под ред. Ю. А. Холодова – М.: Наука, 1987. – С. 117-130.

Паничкин Л.А. Натяжение водных нитей как стимул электрического возбуждения тканей растения // Вестник Нижегород. ун-та им. Н.И. Лобачевского. Серия "Биология". - 2000. - Б/н. - С. 42-44

Пат. RU 2083073 Способ предпосевной обработки семян с.-х. культур / Э.С. Атрощенко [и др.] // Б.И. – 1997. – № 19.

Савин В.Н. Действие ионизирующего излучения на целостный растительный организм. – М.: Энергоиздат, 1981. – 120 с.

Afreen F. et al. Pressure gradients along whole culms and leaf sheaths, and other aspects of humidity-induced gas transport in *Phragmites australis* // *Journal of Experimental Botany*. – 2007. – 58. – P. 1651–1662.

Felix G. et al. Sensing of Osmotic Pressure Changes in Tomato // *Plant Physiol*. – 2000. – Vol. 124, № 3. – P. 1169–1180.

Fensom D.S. et al. Tandem Moving Pressure Wave Mechanism for Phloem Translocation // *Fisiol.Rast. (Moscow)*. – 1994. – Vol. 41. P. 138-145.

Kwiatkowska D. Flower primordium formation at the *Arabidopsis* shoot apex: quantitative analysis of surface geometry and growth // *Journal of Experimental Botany*. – 2006. – Vol. 57, No. 3. – P. 571-580.

# СОДЕРЖАНИЕ АЛЬФА- И ГАММА-ТОКОФЕРОЛА В РАСТЕНИЯХ ТАБАКА (*NICOTIANA TABACUM* L.), ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ СМЫСЛОВЫМ ГЕНОМ СУПЕРОКСИДИДСМУТАЗЫ, В УСЛОВИЯХ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА

С.М. Павлючкова, Н.В. Шалыго

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,  
Минск, svetlanapavluchkova@yandex.ru

**Введение.** Низкие температуры оказывают негативное влияние на формирование урожая сельскохозяйственных культур. В связи с этим проблема разработки методов повышения устойчивости растений к низкотемпературному стрессу является чрезвычайно актуальной. Известно, что трансгенные растения, трансформированные смысловым геном антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы (СОД), проявляют повышенную устойчивость к озону, параквату, свету высокой интенсивности по сравнению с растениями дикого типа [Bowler, 1991; Sen Gupta, 1993; Pitcher, 2002]. Ранее нами было показано, что дополнительное увеличение содержания СОД в митохондриях или хлоропластах растений табака приводит к повышению эффективности функционирования их антиоксидантной системы при холодовом воздействии по сравнению с растениями дикого типа (к повышению активности антиоксидантных ферментов, а также к увеличению содержания антиоксидантов – аскорбата и глутатиона) [Павлючкова, 2012]. В данной работе изучали содержание  $\alpha$ - и  $\gamma$ -токоферола в растениях табака, трансформированных смысловым геном СОД, в условиях низкотемпературного стресса.

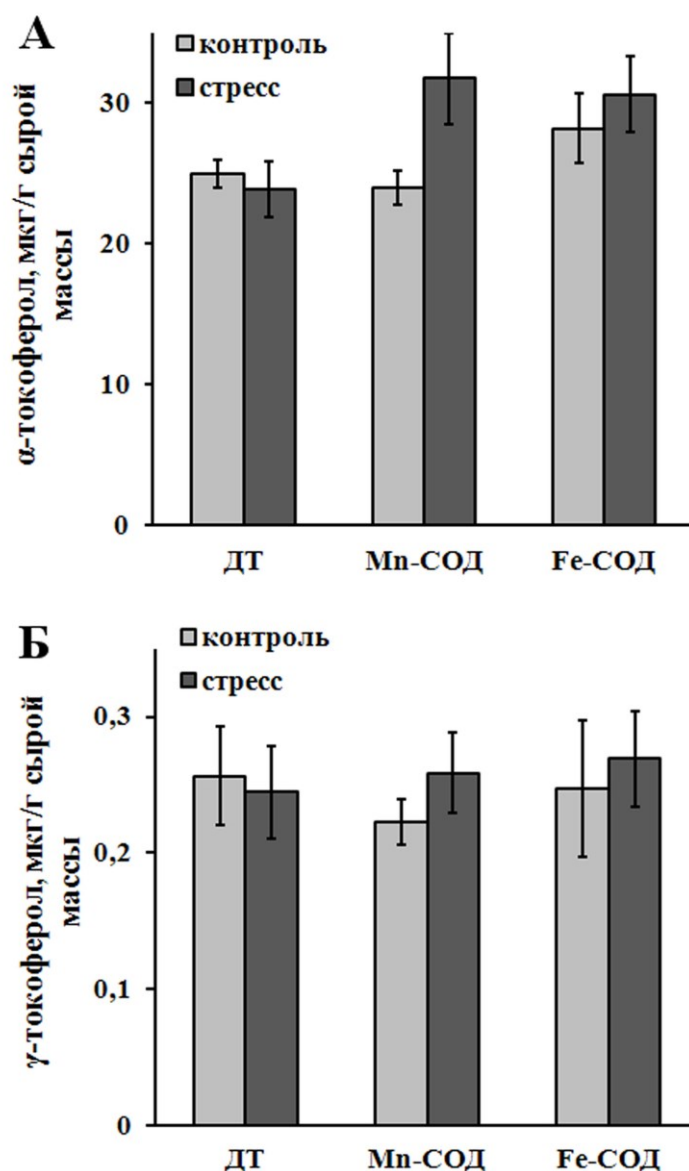
**Материалы и методы.** В экспериментах использовали 4-й лист 45-дневных растений табака (*Nicotiana tabacum* L.), трансформированных смысловым геном митохондриальной СОД (Mn-СОД) и хлоропластной СОД (Fe-СОД) арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L.), а также растения дикого типа (*Nicotiana tabacum* cv SNN). Семена трансформантов были любезно предоставлены профессором Б. Гриммом (Берлинский университет им. А. Гумбольдта, Германия). Растения выращивали в пластмассовых емкостях в грунте «Восторг» («Карио», РБ) под люминесцентными лампами белого света Philips TL-D 36W/765 в режиме 14 ч света (интенсивность  $160 \text{ мкмоль квантов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ) и 10 ч темноты при температуре  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  и относительной влажности воздуха 50–60 %. Низкотемпературный стресс моделировали, помещая растения в холодильную установку при температуре  $+4^\circ\text{C}$  на 22 ч с фотопериодом и интенсивностью освещения, соответствующему выращиванию растений в нормальных условиях. Контролем служили растения, не подвергавшиеся стрессовому воздействию.

Содержание  $\alpha$ - и  $\gamma$ -токоферола определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [Abbasi, 2007]. Экстракцию токоферолов проводили из свежего растительного материала 100%-ным метанолом, содержащим 0,1 мМ КОН, из расчета 0,1 г навески листьев на 1 мл метанола. Токоферолы определяли после разделения на хроматографе «LC-20AD XR» («Shimadzu», Япония), применяя колонку 5 мкм «Nucleodur C18 Gravity» («MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG», Германия), используя флуоресцентный детектор RF-20A XS («Shimadzu», Япония). В качестве элюента использовали раствор ацетонитрил-вода (99:1, v/v), скорость тока составляла 1 мл/мин. Содержание  $\alpha$ - и  $\gamma$ -токоферола определяли по флуоресценции при длине волны возбуждающего света 292 нм и длине волны регистрации 324 нм. В качестве стандарта использовали коммерческий препарат  $\alpha$ - и  $\gamma$ -токоферола фирмы «Sigma-Aldrich» (Германия).

**Результаты и обсуждение.** Показано, что в нормальных условиях выращивания



содержание  $\alpha$ -токоферола в растениях табака дикого типа и трансформантах Mn-COD практически не различалось, в то время как в трансформантах Fe-COD уровень  $\alpha$ -токоферола был выше на 13% по сравнению с диким типом. В условиях низкотемпературного стресса уровень  $\alpha$ -токоферола в трансформантах Mn-COD и Fe-COD увеличился и превышал данный параметр в диком типе на 33% и 28% соответственно (рис. 1, А). Содержание  $\gamma$ -токоферала во всех исследуемых растениях табака в пределах погрешности измерения не изменялось как в нормальных условиях выращивания, так и при действии низкой температуры (рис. 1, Б).



**Рис. 1.** Влияние низкотемпературного стресса (+4°C, 22 ч) на содержание  $\alpha$  и  $\gamma$ -токоферола в трансгенных по Mn-COD (Mn-COD), трансгенных по Fe-COD (Fe-COD) растениях табака и в растениях дикого типа (ДТ). Контроль – до начала действия стрессового фактора, стресс – +4° С, 22 ч.

Известно, что токоферолы локализованы в липидном бислое и обладают способностью блокировать перекисное окисление липидов. Ранее нами было показано, что трансформанты Fe-COD и, в особенности, трансформанты Mn-COD в условиях низко-

температурного стресса накапливают меньшее количество продуктов перекисного окисления липидов, чем растения дикого типа [Павлючкова, 2012]. В работах [Abbasi, 2007; Navaux, 2003] показано, что трансгенные растения табака с пониженным содержанием токоферолов менее устойчивы к холодовому шоку. Можно сделать вывод, что увеличение пула  $\alpha$ -токоферола в трансформантах Mn-SOD и Fe-SOD может быть одним из факторов, повышающих эффективность работы антиоксидантной системы растений, участвующей в формировании устойчивости растительного организма к действию низкотемпературного стресса.

#### Литература

Павлючкова С.М., Шалыго Н.В. Функционирование антиоксидантной системы трансгенных по Fe-SOD и Mn-SOD растений табака (*Nicotiana tabacum*) при низкотемпературном стрессе // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук, 2012. – № 2. – С. 91–95.

Abbasi A. Specific Roles of  $\alpha$ - and  $\gamma$ -Tocopherol in Abiotic Stress Responses of Transgenic Tobacco / A. Abbasi [and others] // Plant Physiology, 2007. – V. 143. – P. 1720–1738.

Bowler C., Slooten L., Vandenbranden S. Manganese superoxide dismutase can reduce cellular damage mediated by oxygen radicals in transgenic plants // EMBO, 1991. – V. 10. – P. 1723-1732.

Navaux M. Chloroplast membrane photostability in chlP transgenic tobacco plants deficient in tocopherols / M. Navaux, C. Lutz, B. Grimm // Plant Physiology, 2003. – V. 132, N 1. – P. 300–310.

Pitcher L., Zilinkas B. Overproduction of petunia chloroplastic copper/zinc superoxide dismutase does not confer ozone tolerance in transgenic tobacco // Plant Physiol., 2002. – V. 110. – P. 583-588.

Sen Gupta A., Heinen J., Holoday A., Burke J., Allen R. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants that overexpress chloroplastic Cu/Zn superoxide dismutase // Proc. Natl. Acad. Sci USA, 1993. – V. 90. – P. 1629-1633.

### **ВЛИЯНИЕ ЗАРАЖЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕМ КОЛЬЦЕВОЙ ГНИЛИ НА СИНТЕЗ БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА В РАСТЕНИЯХ КАРТОФЕЛЯ *IN VITRO***

А.И. Перфильева<sup>1,2</sup>, Е.В. Рымарева<sup>1</sup>, Е.Г. Рихванов<sup>1</sup>, М.А. Живетьев<sup>1</sup>, Т.М. Русалева<sup>1</sup>

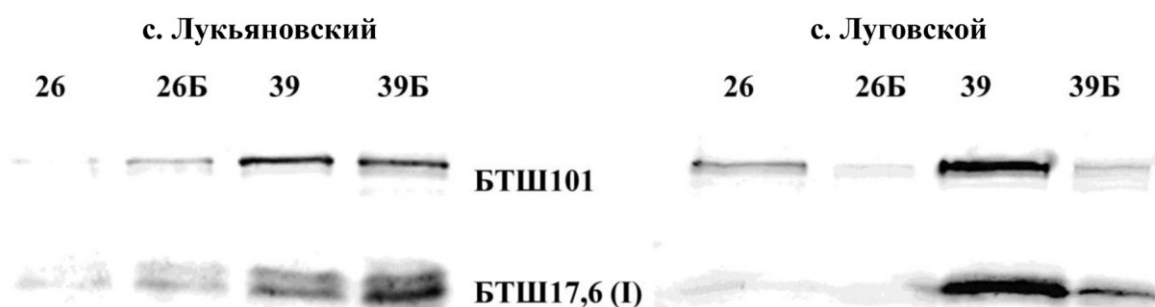
<sup>1</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск

<sup>2</sup>Иркутский государственный технический университет, Иркутск, alla.light@mail.ru

При умеренном тепловом воздействии или тепловом стрессе синтезируются белки теплового шока (БТШ) [Wang et al., 2004], которые защищают клетку от гибели при более жестком тепловом шоке и других абиотических стрессах [Wahid et al., 2007]. В ряде случаев БТШ индуцируются при вторжении патогенов в растения и при обработке элиситорами [Duan et al., 2011, Maibo et al., 2007]. Однако до сих пор остается не вполне изученной роль БТШ при биотическом стрессе, то есть при колонизации растений патогеном. В то время как роль ферментов сигнальных систем при стрессах различной природы активно изучается [Колупаев, Карпец, 2010; Граскова., 2011]. Настоящая работа посвящена исследованию роли БТШ в проникновении возбудителя кольцевой гнили в растения картофеля *in vitro*. В качестве биотического стрессора в данном исследовании использовали *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (*Cms*) - грамположительную бактерию, вызывающую заболевание кольцевая гниль картофеля [Eichenlaub et al., 2011]. Отсутствует информация о роли БТШ в ответной реакции растений на вторжение *Cms*.

В работе были использованы растения *in vitro* (*Solanum tuberosum* L.). Сорт карто-

феля Луговской – устойчивый к бактериальному фитопатогену *Cms* (Украинский НИИ картофельного хозяйства). Сорт картофеля Лукьяновский – восприимчивый к *Cms* (ВНИИ картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха). Заражение растений проводили штаммом грамположительной бактерии *Cms* Ас-1405 (Всероссийская коллекция микроорганизмов г. Москва). Для экспериментов использовали бактериальную суспензию. Термическую обработку картофеля *in vitro* проводили в воздушном термостате при 39°C 2 ч (тепловой стресс). Выделение белка осуществляли по стандартной методике [Побежимова и др., 2004]. Электрофорез в ПААГ проводили на приборе Mini-PRONEAN III Electrophoretic Cell фирма Bio-Rad (USA). Перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану (“Sigma”, США) проводили в специальном приборе для блоттинга (“BIO-RAD”, США). В работе использовали антитела против БТШ101 (Agrisera As 07253) и БТШ17,6 ТТР 2 (Agrisera As 07255) класс I. Растения картофеля *in vitro* заражали *Cms* (в среду культивирования растения вносили 1 мл бактериальной суспензии, OD=1·10<sup>9</sup> кл/мл), после двух суток инкубации при 26°C подвергали тепловому стрессу 39°C, 2 ч. После этого анализировали изменение в уровне синтеза БТШ101 и БТШ17,6. Известно, что роль БТШ17,6 заключается в предотвращении денатурации и агрегации белков клетки с помощью гидрофобных взаимодействий с ними, а роль БТШ101 – в препятствии агрегации белков клетки, а также удаление неправильно свернутых белков [Wang et al., 2004]. Эксперименты показали отсутствие существенных различий в конститутивном синтезе белков без температурного воздействия, то есть в контроле, у восприимчивого и устойчивого сортов картофеля различий обнаружено не было (рис. 1). Поэтому относительная устойчивость растений картофеля сорта Луговской к заражению *Cms* не может быть связана с повышением уровня синтеза БТШ.

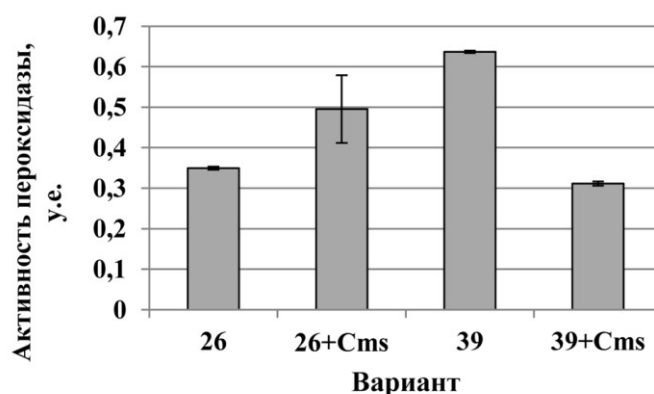


**Рис. 1.** Синтез БТШ в картофеле *in vitro* при тепловом стрессе и заражении *Cms*. 26 – контрольные растения; 26Б – растения, инокулированные *Cms* (штамм Ас-1405); 39 – растения, обработанные при 39°C (2 ч); 39Б – растения, инокулированные *Cms* и обработанные при 39°C (2 ч).

Тепловой стресс 39°C (2 ч) приводил к значительному увеличению содержания этого белка у обоих сортов в одинаковой степени (рис. 1). Таким образом, для растений картофеля *in vitro* температура 39°C является закалывающей, она приводит к индукции синтеза БТШ. Для *A. thaliana* такой температурой является 37-38°C [Hong et al., 2003], для *Sorghum bicolor* – 45°C [Howart, 1991], для дрожжей *S. cerevisiae* – 37-39°C [Рихванов, Войников, 2005].

Заражение *Cms* растений картофеля *in vitro* различным образом влияло на индукцию синтеза БТШ в растениях восприимчивого и устойчивого сортов. В зараженных растениях сорта Лукьяновский происходила индукция синтеза БТШ, а в растениях сорта Луговской, наоборот, синтез БТШ подавлялся. Можно предположить, что динамика изменения уровня БТШ имеет различный характер у устойчивого и восприимчивого сортов. Способность зараженных растений синтезировать БТШ в ответ на тепловой

стресс также имела сортовую специфику. Заражение растений устойчивого сорта подавляло способность растений синтезировать БТШ при тепловом стрессе 39°C, а у восприимчивого сорта этот эффект был слабо выражен. Таким образом, тепловой стресс 39°C, 2 ч индуцирует синтез БТШ101 и БТШ17,6, заражение *Cms* растений картофеля сорта Луговской подавляло их способность индуцировать синтез БТШ при тепловом стрессе. Так как изучаемые стрессовые факторы наиболее выраженно влияли на растения сорта Луговской, далее определяли их влияние на активность общей гвожкозависимой пероксидазы в листьях, как важного фермента сигнальной системы растений, задействованного при всех видах стрессов и являющегося маркером стрессового состояния растения [Граскова, 2011]. Нами обнаружено повышение активности фермента при тепловом стрессе и инфицировании по отдельности, однако синергического влияния стрессовых факторов на активность пероксидазы не отмечалось (рис. 2). Низкий



**Рис. 2.** Активность пероксидазы в картофеле *in vitro* сорта Луговской при тепловом стрессе и заражении *Cms*.

26 – контрольные растения; 26+Cms – растения, инокулированные *Cms* (штамм Ac-1405); 39 – растения, обработанные при 39°C (2 ч); 39+Cms – растения, инокулированные *Cms* и обработанные при 39°C (2 ч).

уровень активности пероксидазы в таком случае возможно свидетельствует о снижении адаптационного потенциала растений и ослаблении их иммунитета. Не исключено, что наблюдаемый эффект связан с изменением направленности синтетических процессов в клетках растений на продукцию других защитных молекул (например, PR-белков).

#### Литература

- Граскова И.А. Роль пероксидаз в устойчивости растений к биотическому стрессу. - Berlin: LAP LAMBER Academic Publishing, 2011. - 356 с.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. - Киев: Основа, 2010. - 352 с.
- Побежимова Т.П., Колесниченко А.В., Грабельных О.И. Методы изучения митохондрий растений. Полярография и электрофорез. - М.: ООО «НПК «ПРОМЭКОБЕЗОПАСНОСТЬ», 2004. - 98 с.
- Рихванов Е.Г., Войников В.К. Функции Hsp104p в развитии индуцированной термотолерантности и прионном наследовании у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Успехи соврем. биологии. - 2005. - Т. 125. - №1. - С. 115-128.
- Duan Y.H., Guo J., Ding K., Wang S.J., Zhang H., Dai X.W., Chen Y.Y., Govers F., Huang L.L., Kang Z.S. Characterization of a wheat HSP70 gene and its expression in response to stripe rust infection and abiotic stresses // Mol Biol Rep. - 2011. - V.38, №1. - P. 301-307.

Eichenlaub R., Gartemann K.H. The *Clavibacter michiganensis* subspecies: molecular investigation of gram-positive bacterial plant pathogens // Annu Rev Phytopathol. - 2011. - V.49. - P. 445-464.

Hong S.W., Lee U., Vierling E. Arabidopsis hot mutants define multiple functions required for acclimation to high temperatures // Plant. Physiol. - 2003. - V.132, №2. - P. 757-767.

Howarth, C.J. Molecular responses of plants to an increased incidence of heat shock // Plant Cell Environment. - 1991. - V.14. - P. 831-841.

Maimbo M., Ohnishi K., Hikichi Y., Yoshioka H., Kiba A. Induction of a small heat shock protein and its functional roles in Nicotiana plants in the defense response against *Ralstonia solanacearum* // Plant Physiol. - 2007. - V.145, №4. - P. 1588-1599.

Wahid A., Gelani S., Ashraf M., Foolad M.R. Heat tolerance in plants // An overview. Environmental and Experimental Botany. - 2007. - V.61. - P. 199-223.

Wang W., Vinocur B., Shoseyov O., Altman A. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response // Trends Plant Sci. - 2004. - V.9, №5. - P. 244-252.

## ТРАНСКРИПЦИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ АРАБИДОПСИСА ПРИ НАРУШЕНИИ РАБОТЫ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ

Т.В. Потапова<sup>1,2</sup>, Я.О. Зубо<sup>1</sup>, В.И. Тарасенко<sup>2</sup>,  
Г.А. Невинский<sup>4</sup>, Т. Бернер<sup>1</sup>, Ю.М. Константинов<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии/генетики Университета Гумбольдта, Берлин

<sup>2</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, yukon@sifibr.irk.ru

<sup>3</sup>Иркутский государственный университет, Иркутск

<sup>4</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

Несмотря на многочисленные исследования последних десятилетий молекулярные механизмы регуляции экспрессии генов растительных митохондрий вплоть до настоящего времени остаются недостаточно изученными. Такое состояние проблемы можно объяснить, в частности, вполне очевидной сложностью аппарата регуляции генетических функций митохондрий, поскольку в соответствии с современными представлениями митохондриальные гены наряду с генами ядра и хлоропластов могут входить в состав многочисленных генных сетей, функционирующих в процессе роста и развития растений и выполняющих различные органо- и тканеспецифические функции. Очевидно, что такие не до конца охарактеризованные генные сети митохондрий принимают самое активное участие не только в обеспечении энергетических потребностей клетки, но и в формировании физиологических ответов растительного организма на действие факторов биотического и абиотического стрессов. Как показано ранее [Константинов, Субота, Арзиев, 1997, 1999; Konstantinov, Lutsenko, Podsozny, 1995; Wilson et al., 1996], редокс-состояние митохондрий и дыхательной цепи оказывают прямое влияние на генетические процессы в митохондриях в системе *in organello*. Однако, детальные механизмы редокс-регуляции экспрессии митохондриальных генов *in vivo*, включая участие в редокс-сигналинге отдельных электрон-транспортных путей (основного цитохромного пути и альтернативной оксидазы), остаются недостаточно изученными. В настоящей работе с помощью метода run-on транскрипции в митохондриях исследовано влияние редокс-состояния основного и альтернативного путей переноса электронов на транскрипцию митохондриальных генов в растениях *Arabidopsis thaliana*.

Семена арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L. Heynh) линии Col-0 (растения дико-

го типа, экотип “Columbia”), и линии XX-2 (растения, трансформированные конструкцией, экспрессирующей ген *aox1a* в сенсовой ориентации) получены из банка семян NASC (Великобритания). Растения выращивали в климатических камерах при температуре 20-23°C, 16-ти часовом освещении (130 мкмоль квантов м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>) (Lamp Master HPI-T Plus 400W E40) («Philips»). Семена проращивали в кюветах в почве, смешанной с перлитом в соотношении 1:1. Возраст растений определяли с момента прорастания семян. Инкубацию срезанных растений на воде и растворах ингибиторов проводили при постоянном освещении интенсивностью 180 или 270 мкмоль квантов м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> в течение 4-х часов. Конечная концентрация метилвиологена при экспозиции срезанных растений в водном растворе составляла 0,5 mM. В контрольном варианте срезанные растения инкубировались в течение 4-х часов в воде. Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования с последующей очисткой в градиенте плотности сахарозы как описано в [Konstantinov et al., 1995] в нашей модификации. Для этого 12-дневные растения (10 г) гомогенизировали в 90 мл буфера А (0.3 М сахароза, Na<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 5 mM, 2 mM EDTA, PVP 1%, BSA 1%, цистеин 5 mM, 5 mM β-меркаптоэтанол). Гомогенат пропускали через миракрос («Calbiochem-Boehringer») и центрифугировали при 5000 g 15 мин. Отбирали супернатант и центрифугировали 20 мин при 22000 g. Полученный осадок ресуспендировали в 20 мл среды промывания (буфер Б: 50 mM Tris-HCl, pH 7.0, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM KCl, and 4 mM β-меркаптоэтанол). Затем добавляли буфер Б до объема 40 мл и центрифугировали суспензию при 3000 g 5 мин. Супернатант отбирали в новые стаканы и центрифугировали при 18000 g 15 мин. Осадок ресуспендировали в 8 мл буфера Б и затем гомогенизировали с помощью поттера объемом 15 мл. Суспензию центрифугировали при 3000 g 5 мин. Затем супернатант наносили на градиент перколла 18%/25%/50% и центрифугировали при 40,000 g 30 мин. Интактные митохондрии собирали между фазами 25% и 50% перкольного градиента. Митохондрии промывали дважды в буфере Б и центрифугировали при 22000 g 10 мин. Конечный осадок митохондрий ресуспендировали в 0.5 - 1 мл буфера Б. Все процедуры проводились при 4° С. Концентрацию митохондриального белка определяли по методу Бредфорда (1976) с красителем Кумасси голубой R-250 с использованием набора «Bio-Rad Protein Assay» («Bio-Rad»). Изучение транскрипции митохондриальных генов проводили методом run-on транскрипции [Giege et al., 2000] в нашей модификации. Подбор праймеров для исследуемых генов осуществляли при помощи программы Vector NTI. Интактные митохондрии (в количестве, эквивалентном 100 мкг митохондриального белка) добавляли к реакционной смеси, содержащей 50 мл транскрипционного буфера (50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM CTP, GTP и ATP, 0.01 mM UTP, 50 mCi [α-<sup>32</sup>P]UTP («Amersham»), 20 ед. РНазин («Fermentas») и 10 mM β-меркаптоэтанол. Реакционная смесь осторожно пипетировалась 6 раз для разрушения митохондрий. Раствор инкубировали 15 мин при 25°C и останавливали реакцию добавлением эквивалентного объема стоп-буфера (50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 25 mM EDTA, 5% саркозил). <sup>32</sup>P-меченные транскрипты изолировали из митохондрий, как описано в работе [Zubo et al., 2008], и гибридизовали с нанесенными на нейлоновую мембрану митохондриальными генами, в буфере, содержащем 250 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 7% SDS, и 2.5 mM EDTA. Радиоактивные сигналы детектировали с помощью сканера «Molecular Imager FX» с использованием программы «Quantity One software» («Bio-Rad»). Эффекты ингибиторов, используемых в run-on транскрипции митохондриальных генов, рассматривались как достоверные, если сигналы отличались от контрольного варианта (срезанные растения, инкубируемые в воде), как минимум, в 2 раза. Все эксперименты выполнены в 3-4-х повторностях. Тотальную ДНК выделяли из *Arabidopsis thaliana* Col-0 методом фенол-хлороформной экстракции и обрабатывали РНазином (DNase-free) («Fermentas»). Фрагменты 31 митохондриальных генов были амплифицированы с помощью ПЦР. Генные фрагменты

наносились на нейлоновую мембрану Hybond-N+ (Amersham Pharmacia Biotech). ДНК каждого генного фрагмента в количестве 1 мкг обрабатывали, как описано [Zubo et al., 2008] и наносили на мембрану в двух повторностях с помощью аппарата Bio-Dot (“Bio-Rad”).

В нескольких сериях экспериментов с применением метода run-on транскрипции мы исследовали влияние редокс-состояния основного и альтернативного путей переноса электронов на транскрипцию митохондриальных генов в растениях *Arabidopsis thaliana* дикого типа и линии XX2 с повышенной экспрессией гена AOX1a, кодирующего альтернативную оксидазу. Исследованные в данной работе гены являются представителями разных функциональных групп митохондриального генома: 3 гена рибосомальных РНК, 8 генов транспортных РНК, 4 кодирующих рибосомальные белки гена, 9 кодирующих компоненты дыхательной цепи генов, 3 кодирующих субъединицы АТФ-синтазы гена, 4 гена биогенеза цитохрома *c* и гены *orf*. Установлено, что ингибиторы цитохромного пути (антимидин А, KCN) и альтернативной оксидазы (салицилгидроксамовая кислота - СГК) оказывают разнонаправленный эффект на скорость транскрипции митохондриальных генов в растениях дикого типа: если ингибирование основного пути переноса электронов в митохондриях приводило к существенному снижению скорости транскрипции, то при ингибировании альтернативной оксидазы, напротив, наблюдалось достоверное увеличение скорости транскрипции генов. Обнаружено также, что обработка растений обеих линий паракватом вызывает достоверное снижение транскрипционной активности исследованных митохондриальных генов, однако, подавление транскрипции было менее выражено в митохондриях линии XX2. Таким образом, обработка растений дикого типа и линии XX2 паракватом, в целом, оказывает негативное влияние на митохондриальную транскрипцию. При этом необходимо отметить, что снижение скорости транскрипции проявлялось в различной степени для отдельных митохондриальных генов.

На основании результатов проведенных экспериментов можно заключить, что ингибирование потока электронов по цитохромному пути может служить редокс-сигналом для репрессии транскрипции митохондриальных генов, в то время как усиление потока электронов, происходящее при ингибировании альтернативного пути окисления, вызывает активацию транскрипции. Таким образом, с использованием метода run-on транскрипции установлено, что как основной цитохромный путь, так и альтернативная оксидаза участвуют в редокс-сигналинге, обеспечивающем регуляцию транскрипции митохондриальных генов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Интеграционного междисциплинарного проекта СО РАН № 59, Программы Президиума РАН № 21 «Фундаментальная наука – медицине» (проект ФНМ-2012-15), гранта РФФИ 12-04-01148-а и Министерства образования и науки Российской Федерации.*

#### Литература

Константинов Ю.М., Субота И.Ю., Арзиев А.Ш. Влияние редокс-условий на синтез белка в изолированных митохондриях кукурузы (*Zea mays*) // Доклады РАН, 1997. – Т.354, № 5. – С. 699-701.

Константинов Ю.М., Субота И.Ю., Арзиев А.Ш. Влияние редокс-системы глутатиона на трансляционную активность митохондрий кукурузы (*Zea mays*). Доклады РАН, 1999. – Т.365, № 1. – С. 126-128.

Giege P., Hoffmann M., Binder S., Brennicke A. RNA degradation buffers asymmetries of transcription in *Arabidopsis* mitochondria // EMBO Reports, 2000. – Vol. 2 – P. 164-170.

Konstantinov Y.M., Lutsenko G.N., Podsonny V.A. Genetic functions of isolated maize mitochondria under model changes of redox conditions // Biochemical and Molecular

Biology International, 1995. – V.36. – P. 319-326.

Wilson S.B., Davidson G.S., Thomson L.M., Pearson C.K. Redox control of RNA synthesis in potato mitochondria // European Journal of Biochemistry, 1996. – V.242. – P. 81-85.

Zubo Y.O., Kusnetsov V.V. Application of run-on transcription method for studying the regulation of plastid genome expression // Russian Journal of Plant Physiology, 2008. - Vol. 55 - P.107-114.

## **ВАКУОЛЬ КАК ГЛАВНОЕ ЗВЕНО СИСТЕМЫ ДЕТОКСИКАЦИИ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ**

Е.В. Прадедова, И.С. Трухан, О.Д. Нимаева, У.А. Мурач, Р.К. Саляев

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, praded@sifibr.irk.ru

Поток токсичных соединений в организме растений, как и в организме животных, встречает на своем пути защитные барьеры, которые представлены разными механизмами детоксикации. Механизмы детоксикации у растений, в отличие от животных, мало изучены. Есть все основания полагать, что образовавшиеся в процессе эволюции системы детоксикации ксенобиотиков и метаболитических ядов у животных и растений очень близки [Coleman et al., 1997]. Руководствуясь этим предположением, мы приступили к поиску в растительной клетке механизмов детоксикации, аналогичных клеткам животных. Имеющиеся на сегодняшний день факты указывают на то, что главным звеном в системе детоксикации растительной клетки является центральная вакуоль. Установлено, что в вакуоль транспортируются конъюгаты ксенобиотиков и эндогенных токсинов с глутатионом (GSH), этот транспорт осуществляется через специализированные переносчики, расположенные на тонопласте (ABC-транспортеры) [Norcton et al., 2011]. Высказывается мнение, что вакуоль участвует в детоксикации перекиси водорода, которая активно продуцируется при стрессе [Van den Ende, Valuru, 2009]. Она также вовлечена в депонирование ионов тяжелых металлов при участии производных GSH – фитохелатинов [Morelli, Scarano, 2004]. Кроме того, в ней активно аккумулируется дисульфид глутатиона (GSSG) [Norcton et al., 2011].

Транспортируемые в вакуоль экзо- и эндогенные токсичные соединения должны подвергаться дальнейшей биотрансформации и, если это по каким-то причинам не происходит, они накапливаются в вакуолярном содержимом. Можно предположить, что этапы биотрансформации этих соединений, их последовательное преобразование ферментативными системами у вакуолей и растительных клеток, в целом, будут аналогичными клеткам животных. На сегодня весь процесс детоксикации у животных подразделяют на три основные энергозависимые фазы. На первой фазе при действии оксидоредуктаз токсичные метаболиты превращаются в гидрофильные реакционноспособные соединения. На второй – гидрофильные эндо- и экзогенные электрофильные соединения вступают в реакции конъюгации с образованием преимущественно нетоксичных продуктов легко выводимых из клетки. На третьей фазе формируется антирадикальная и антиперекисная защита от повреждающего действия свободных радикалов и перекисных соединений, образующихся в ходе биотрансформации метаболитов [Коржов и соавт., 2007].

Чужеродные соединения, проникая в животную клетку, взаимодействуют со специализированными комплексами цитохрома P-450 и подвергаются гидроксигированию, при котором могут образовываться как более, так и менее токсичные высокоактивные метаболиты, в дальнейшем вступающие в реакции конъюгации [Голиков и соавт., 1986]. На вакуолярной мембране (тонопласте) некоторых растений обнаружен цито-



хром P-450 [Xu et al., 2006]. Он и его ферментативные комплексы могут быть первым звеном в цепи преобразований токсичных соединений. Гидроксилированные метаболиты и их конъюгаты далее транспортируются внутрь вакуоли через специализированные переносчики, в числе которых выявляемые на тонопласте ABC-транспортеры.

По другую сторону вакуолярной мембраны, внутри вакуоли, как правило, в примембранном пространстве, располагается пероксидаза (КФ 1.11.1.7) [Ferrerres et al., 2011]. Этот фермент относят к пероксидазам III класса, отличительной особенностью которых является широкая субстратная специфичность и полифункциональность [Рогожин и соавт., 2004]. Пероксидаза вакуолярной локализации, как показали наши исследования изолированных вакуолей корнеплодов столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.), представлена широким спектром изоформ, которые способны окислять соединения не только перекисью водорода в пероксидазных реакциях, но и молекулярным кислородом в оксидазных реакциях [Прадедова и соавт., 2011; 2013]. Гидроксилированные цитохромом P-450 ксенобиотики могут служить субстратом для пероксидазы, подвергаясь, таким образом, дальнейшему окислению. Окислительное преобразование соединений с участием пероксидазы в некоторых случаях бывает многостадийным, поскольку продукты окисления, в силу низкой субстратной избирательности этого фермента, могут становиться ее субстратами и подвергаться дальнейшему окислению [Рогожин и соавт., 2006]. Окисленные цитохромом P-450 и пероксидазой гидрофильные экзо- и эндогенные метаболиты внутри вакуолей в рамках дальнейшей биотрансформации должны вовлекаться в реакции конъюгации с GSH или аминокислотами. Поступающие в вакуоль химические соединения, которые уже имеют в своем составе реакционноспособные группы (ОН, СООН, NH<sub>2</sub>, SH) могут вступать в реакции конъюгации без предварительных окислительных преобразований.

В вакуолях клеток корнеплодов столовой свеклы мы выявили глутатион и глутатион-S-трансферазную (GST, КФ 2.5.1.12) активность [Прадедова и соавт., 2010], поэтому есть все основания полагать, что внутри вакуоли упомянутые соединения могут конъюгировать с GSH.

В ходе исследования аминокислотного состава мы установили, что в вакуолях клеток корнеплодов свеклы, накапливается глютамин, глютаминовая кислоты, аспарагин и аспарагиновая кислота. Глютаминовая и аспарагиновая кислоты при помощи трансфераз аминокислот образуют конъюгаты с другими аминокислотами и соединениями, которые в таком виде транспортируются через клеточные мембраны. В клетках животных эти аминокислоты участвуют в транспорте цистеина и детоксикации некоторых чужеродных соединений [Cummins et al., 2011]. Не исключено, что и в вакуолярном компартменте они также вовлекаются в процессы детоксикации.

На сегодня установлено, что в вакуоли растительных клеток с большим предпочтением и довольно активно транспортируется GSSG, и в меньшей степени GSH [Tommasini et al., 1993]. Одни авторы полагают, что таким образом выводится и обезвреживается окисленный глутатион [Tommasini et al., 1993]. Другие, ссылаясь на высокую активность GSH, считают, что дисульфид – наиболее удобная для транспортировки форма [Noctor et al., 2011]. Очевидно, прояснить ситуацию помогут исследования путей метаболизма глутатиона в пределах вакуолярного компартмента. Мы определили соотношение окисленного и восстановленного глутатиона у вакуолей клеток корнеплодов свеклы, и установили, что концентрация GSH была в 10 раз выше концентрации GSSG, что можно объяснить восстановлением последнего до GSH внутри вакуолей. Основным регулятором соотношения GSSG/GSH является глутатионредуктаза (GR, КФ 1.8.1.7), которую мы также выявили в вакуолях клеток корнеплодов столовой свеклы. Вероятно, транспортируемый в вакуоль GSSG восстанавливается этим ферментом и вовлекается в реакционные процессы.

Конъюгацию электрофильных ксенобиотиков и токсичных метаболитов с глутатионом принято рассматривать как один из основных механизмов детоксикации [Dixon et al., 2010]. Однако, GSH и связанные с ним ферментативные системы (GST, глутатионпероксидаза, GR) прямо или косвенно участвуют в функционировании и других звеньев системы детоксикации. Например, GSH может служить субстратом пероксидазы [Рогожин и соавт., 2006] и модулятором активности цитохрома P-450 [Голиков и соавт., 1986], внося свой вклад в процессы окислительной модификации на первой фазе детоксикации. Он также вовлекается в устранение избытка активных форм кислорода ( $O_2\cdot$  и  $H_2O_2$ ), которые образуются при биотрансформации ксенобиотиков и эндогенных токсинов с участием оксидоредуктаз [Коржов и соавт., 2007], и, таким образом, играет заметную роль на третьей фазе системы детоксикации – антирадикальной и антиперекисной защите клетки. В целом в рамках системы детоксикации различают три уровня антиоксидантной защиты, в которых принимают участие следующие ферменты: 1) супероксиддисмутаза (СОД), 2) каталаза и пероксидаза, 3) глутатионпероксидаза и GST. Эти ферменты последовательно восстанавливают супероксидный анионрадикал,  $H_2O_2$  и органические гидроперекиси [Коржов и соавт., 2007]. Из перечисленных ферментов в вакуолях клеток корнеплодов столовой свеклы мы выявили, наряду с пероксидазой и GST, Cu,Zn-СОД (КФ 1.15.1.1) [Прадедова и соавт., 2009, 2010, 2011].

Все перечисленные выше ферменты, выявляемые в вакуолях, прежде не рассматривались и не исследовались как механизмы детоксикации. Результаты наших исследований позволяют прийти к заключению, что они наряду с глутатионом и упомянутыми аминокислотами, действуют согласованно в рамках единой многоуровневой системы детоксикации, функционирующего в вакуолярном компартменте.

#### Литература

Голиков С. Н., Саноцкий И. В., Тиунов Л. А. Общие механизмы токсического действия. Л.: Медицина, 1986. – 280 с.

Коржов В. И., Жадан В. Н., Коржов М. В. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты // Журн. АМН Украины 2007, – Т. 13. – С. 3-19.

Прадедова Е.В., Ишеева О.Д., Салаяев Р.К. Супероксиддисмутаза вакуолей клеток растений // Биол. мембраны, 2009. – Т.26. – С. 21-30.

Прадедова Е.В., Ишеева О.Д., Салаяев Р.К. Ферменты антиоксидантной защиты вакуолей клеток корнеплодов столовой свеклы // Физ. раст., 2011. – Т. 58. – С. 40–48.

Прадедова Е.В., Ишеева О.Д., Толпыгина О.А., Путилина Т.Е., Салаяев Р.К. Глутатион и глутатион-S-трансферазная активность вакуолей корнеплодов столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.) // ДАН, 2010. –Т. 433. – С. 570-573.

Прадедова Е.В., Нимаева О.Д., Трухан И.С., Салаяев Р.К. Тирозиназная активность пероксидазы вакуолей и пластид клеток корнеплодов столовой свеклы // ДАН, 2013. – Т. 448. – С. 228–231.

Рогожин В.В., Верхотуров В.В., Рогожина Т.В. Пероксидаза: строение и механизм действия. Иркутск: Изд-во ИрГТУ, 2004. – 200 с.

Coleman J., Blake-KaJff M., Davies T. Detoxification of xenobiotics by plants: chemical modification and vacuolar compartmentation // Plant Science, 1997. – V. 2. – P. 141-151.

Cummins I., Dixon D.P., Freitag-Pohl S., Skipsey M., Edwards R. Multiple roles for glutathione transferases in xenobiotic detoxification // Drug Metabolism Reviews, 2011. – V. 43. – P. 266-280.

Dixon D.P., Skipsey M., Edwards R. Roles for glutathione transferases in plant secondary metabolism // Phytochemistry, 2010. – V.71. – P.338–350.

Ferreres F., Figueiredo R., Bettencourt S., Carqueijeiro I., Oliveira J., Gil-Izquierdo A.,

Pereira D.M., Valentao P., Andrade P.B., Duarte P., Barcelo A.R., Sottomayor M. Identification of phenolic compounds in isolated vacuoles of the medicinal plant *Catharanthus roseus* and their interaction with vacuolar class III peroxidase: an H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> affair? // J. Exp. Botany., 2011. – V. 62. – P. 2841-2854.

Morelli E, Scarano G. Copper-induced changes of nonprotein thiols and antioxidant enzymes in the marine microalga *Phaeodactylum tricornutum* // Plant Science, 2004. – V. 167. – P. 289-296.

Noctor G., Queva G., Mhamdi A., Chaouch S., Foyer C.H. Glutathione // The Arabidopsis Book: American Society of Plant Biologists, 2011. – P.2-32.

Tommasini R., Martinoia E., Grill E., Dietz K.-J., Amrhein N. Transport of oxidized glutathione into barley vacuoles: evidence for the involvement of the glutathione-S-conjugate ATPase // Zeitschrift Naturforsch, 1993. – V. 48. – P. 867-871.

Van den Ende W., Valuru R. Sucrose, sucrosyl oligosaccharides, and oxidative stress: scavenging and salvaging? // J. Exp. Bot., 2009. – V. 60. – P. 9-18.

Xu Y., Ishida H., Reisen D., Hanson M. R. Upregulation of a tonoplast-localized cytochrome P450 during petal senescence in *Petunia inflata* // BMC Plant Biol., 2006. – V. 6. – P. 1-18.

## РЕДОКС-СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА ВАКУОЛЕЙ И ПЛАСТИД КОРНЕПЛОДОВ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ

Е.В. Прадедова, И.С. Трухан, О.Д. Нимаева, У.А. Мурач, Р.К. Саляев

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, praded@sifibr.irk.ru

Системы, регулирующие концентрацию активных форм кислорода (АФК) и спонтанные реакции окисления, находятся главным образом там, где идут активные окислительные процессы. На сегодня достигнут значительный прогресс в понимании функционирования индивидуальных или локальных редокс-систем. Их выявляют и исследуют в таких клеточных структурах, как пластиды, митохондрии, клеточные стенки и пероксисомы. Что же касается вакуолей, то редокс-системы этого клеточного компартмента до сих пор остаются мало изученными.

Мы установили, что в вакуолях может функционировать редокс-система глутатиона, которая представлена самим глутатионом и глутатионзависимыми ферментами. Цель настоящего исследования состояла в том, чтобы сравнить активность этой системы у вакуолей и пластид. Основная причина выбора пластид в качестве объекта исследования заключалась в том, что их глутатионовая система довольно активно исследуется в рамках аскорбат-глутатионового цикла. В связи с этим первоочередные задачи настоящей работы состояли в определении у вакуолей и пластид клеток корнеплодов столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.): 1) содержания глутатиона (GSH); 2) активности глутатион-S-трансферазы (GST, КФ 2.5.1.12) и глутатионредуктазы (GR, КФ 1.8.1.7).

**Содержание глутатиона** определяли двумя способами: при помощи спектрофотометрического метода с реактивом Элмана (5,5'-дитиобис-2-нитробензойная кислота, ДТНБ) и метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЖХ). С ДТНБ концентрация суммарного глутатиона, когда пробы инкубировали с глутатионредуктазой из пекарских дрожжей и НАДФН (GR), составляла: для вакуолей – 0,71 мМ (0,41 мМ приходилось на GSH и 0,3 мМ – на GSSG), для пластид – 0,49 мМ (0,26 мМ – GSH и 0,23 мМ – GSSG), для экстракта ткани – 1,71 мМ (0,99 мМ – GSH и 0,72 мМ – GSSG). Метод с реактивом Элмана широко применяется, однако ДТНБ кроме GSH реагирует и с другими сульфгидрильными соединениями. Более чувствительным, специфичным и

эффективным методом является ВСХЖ. Величины концентраций глутатиона, при определении этим методом, составили в среднем: у вакуолей для GSH – 0,48 мМ, а для GSSG – 0,035 мМ; у пластид для GSH – 0,075 мМ, а для GSSG – 0,004 мМ; у тканевых экстрактов GSH – 1,45 мМ, а GSSG – 0,13 мМ. Содержание глутатиона, определяемое двумя методами заметно различалось. Этот факт отмечен и обсуждается в литературе в отношении других растительных объектов [Noctor et al., 2011]. Если сопоставить данные, полученные разными методами, то можно заметить одинаковую тенденцию: наибольшим содержанием GSH характеризовались экстракты ткани, а самым низким – пластиды. Что не совпадает с результатами исследования клеток *Arabidopsis thaliana*, в которых наибольшая концентрация GSH была в хлоропластах и цитозоле, а наименьшая – в вакуолях [Noctor et al., 2011]. На сегодня установлено, что в вакуоли растительных клеток активно транспортируется GSSG, с большим предпочтением, чем GSH [Tommasini et al., 1993]. Существует два мнения относительно целесообразности этого процесса. Согласно первому, таким образом, выводится и обезвреживается окисленный глутатион [Tommasini et al., 1993, 4]. Авторы другого мнения, учитывая высокую активность GSH, полагают, что его передвижение в пределах клетки затруднено и дисульфид – наиболее удобная для транспортировки форма [Noctor et al., 2011]. Очевидно, прояснить ситуацию помогут исследования путей метаболизма глутатиона в пределах вакуолярного компартмента. Концентрация GSH у вакуолей клеток корнеплодов свеклы была заметно выше концентрации GSSG, что можно объяснить восстановлением последнего в пределах вакуоли глутатионредуктазой.

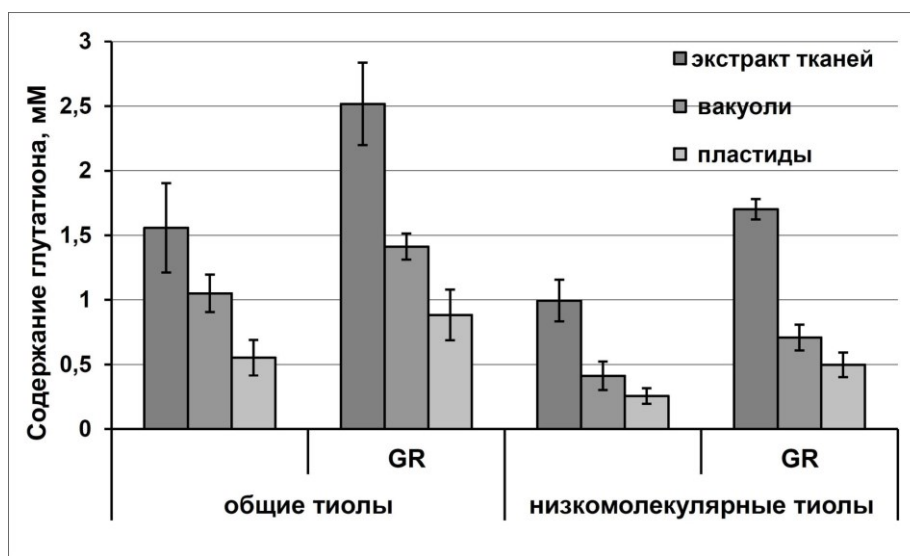


Рис. 1. Содержание тиолов, определяемое с 5,5'-дितिобис-2-нитробен-зойной кислотой: GR – реакция восстановления глутатиона глутатионредуктазой дрожжей.

**Глутатионредуктаза.** Сравнительный анализ активности GR позволил установить, что самый высокий уровень активности был у фермента пластида, а самый низкий – у фермента экстрактов ткани (рис. 2). Наши результаты заметно отличались от результатов, полученных для GR проростков *Hordeum vulgare*. В этой единственной работе, которую нам удалось обнаружить, исследовали GR-активность у вакуолей и она оказалась в несколько раз ниже активности фермента из цитозоля и хлоропластов [Rautenkranz et al., 1994].

Для GR животных и растений характерна ярко выраженная зависимость от условий pH и природы пиридиннуклеотида. При восстановлении GSSG донором электронов и протонов могут служить НАДФН и НАДН. Сродство фермента к пиридиннуклеотидам определяется условиями pH: для НАДФН требуются нейтральные и слабощелоч-

ные условия, а для НАДН – кислые [Noctor et al., 2011]. При этом активность с НАДФН в несколько раз выше, чем с НАДН. Результаты наших экспериментов подтвердили эту зависимость (рис.2). Реакции восстановления GSSG в наших образцах протекали более активно с НАДФН при pH 7,0-8,0, а с НАДН – при pH 5,0.

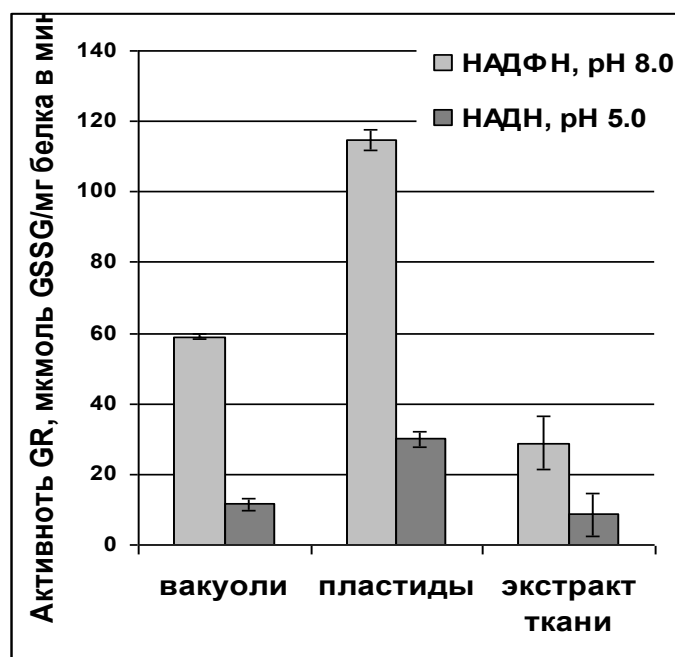


Рис. 2. Уровень активности глутатионредуктазы в зависимости от используемого субстрата.

Кажущиеся и истинные значения  $K_m$  для GSSG у GR из разных видов растений варьируют в пределах 15-80 мкМ [Noctor et al., 2011]. Кинетические параметры для GSSG, рассчитанные в ходе наших экспериментов, составляли: для GR вакуолей  $K_m=13,1\pm 2,1$  мкМ и  $V_m=41,8\pm 10,1$  мкМ мин<sup>-1</sup>; для GR пластид  $K_m=24,7\pm 5,8$  мкМ и  $V_m=114,5\pm 11,2$  мкМ мин<sup>-1</sup>; для GR экстрактов ткани  $K_m=15,7\pm 2,3$  мкМ и  $V_m=28,4\pm 5,7$  мкМ мин<sup>-1</sup>.

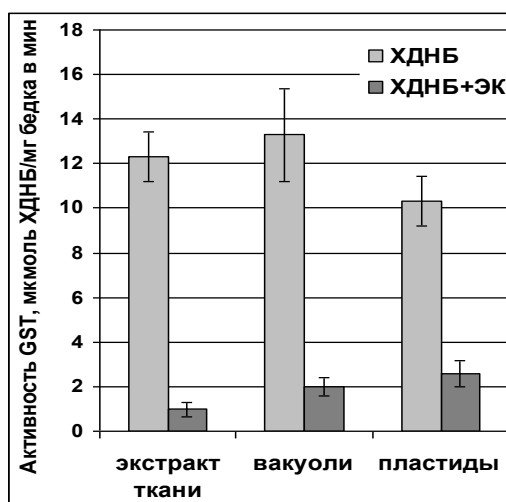
Специфические ингибиторы для GR не обнаружены, инактивируют фермент нитрофураны и ароматические нитросоединения [Noctor et al., 2011]. Действительно в присутствии фурацилина наблюдалось снижение активности GR вакуолей и пластид (на 30%) и тканевого экстракта (на 15%). Более сильный ингибирующий эффект оказывал 1-хлор-2,4-динитробензол (ХДНБ). С ХДНБ  $V_m$  снижалось в среднем в 2 раза, при этом величины  $K_m$  не изменялись, что указывало на неконкурентный тип ингибирования. Для GR клеток животных также был показан неконкурентный тип ингибирования ХДНБ [Bilzer et al., 1984].

В результате исследования изоферментного спектра зимографическим методом в ПААГ у всех объектов выявили две изоформы GR: Rf 0,5-0,52 и 0,35-0,38 (7,5% ПААГ). Rf для GR пекарских дрожжей составляла 0,41-0,43.

**Глутатион-S-трансфераза** в клетках растений, как и в клетках животных, выполняет конъюгирующую и тиолиазную функции [Dixon et al., 2010]. Как правило, для определения конъюгирующей активности GST спектрофотометрическим методом в качестве субстратов применяют ХДНБ или этакриновую кислоту (ЭК). Оба субстрата при совместном использовании ведут себя как конкурентные ингибиторы фермента [Dixon et al., 2010, Scarponi et al., 2006]. Мы установили, что в целом активность с ХДНБ у GST вакуолей, пластид и экстрактов тканей была сопоставима, а ЭК (0,5 мМ) подавляла ре-

акции с ХДНБ в среднем на 80% (рис. 3).

Оптимальными условиями pH для GST вакуолей были pH 7,5-8,0, а для пластид и тканевого экстракта – pH 7,5. При слабокислых (pH 6,0) активность резко снижалась (в среднем в 5 раза). Установлено, что оптимумы pH для GST из других растительных объектов также варьировали в пределах 7,0-8,0 [Dixon et al., 2010]. При определении кинетических параметров для ХДНБ, мы выявили довольно низкое сродство к этому субстрату: для вакуолярной GST  $K_m$  составляла  $24,6 \pm 0,34$  мкМ, а  $V_m$   $24,9 \pm 0,24$  мкМ  $\text{мин}^{-1}$ ; для GST пластид  $K_m = 27,4 \pm 2,9$  мкМ и  $V_m = 10,9 \pm 1,7$  мкМ  $\text{мин}^{-1}$ ; для GST тканевого экстракта  $K_m = 13,9 \pm 3,1$  мкМ и  $V_m = 17,4 \pm 3,4$  мкМ  $\text{мин}^{-1}$ . Ранее было установлено, что кинетические характеристики фермента зависят от его изоферментного состава и природы субстрата [Scarponi et al., 2006].



**Рис. 3. Уровень активности глутатион-S-трансферазы: ХДНБ – 1-хлор-2,4-динитробензол; ЭК – этакриновая кислота (0,5 мМ).**

Изоферментный состав GST мы определяли при помощи зимографического метода с нитросиним тетразолием. Электрофорез при неденатурирующих условиях проводили в 10% ПААГ. Различные сочетания конкурирующих между собой субстратов, в числе которых были не только ХДНБ и ЭК, но и дигидрокверцитин, позволили выявить три основные изоформы GST у вакуолей ( $R_f$  0,41; 0,46; 0,51). Тогда как в тканевом экстракте их число в зависимости от субстрата могло достигать пяти ( $R_f$  0,29; 0,32; 0,41; 0,46; 0,51), а в пластидах – четыре изоформы ( $R_f$  0,37; 0,42; 0,48; 0,58). Следует отметить, что изоферментный состав пластид заметно отличался от вакуолярного. В то же время совпадение изоформ GST у вакуолей и экстрактов ткани можно объяснить тем, что водные экстракты запасающей паренхимы корнеплодов представлены, главным образом, вакуолярным соком.

Полученные результаты являются первыми шагами в исследовании системы глутатиона вакуолей клеток растений. Уже на первых этапах работы можно отметить как общие черты, так и отличительные особенности этой системы.

#### Литература

Bilzer M., Krauth-Siegel R. L., Schirmer R. H., Akerboom T.P. M., Sies H., Schulz G. E. Interaction of a glutathione S-conjugate with glutathione reductase Kinetic and X-ray crystallographic studies // *Eur. J. Biochem.*, 1984. – V. 138. – P.373-378.

Dixon D.P., Skipsey M., Edwards R. Roles for glutathione transferases in plant secondary metabolism // *Phytochemistry*, 2010. – V. 71. – P. 338–350.

Noctor G., Queva G., Mhamdi A., Chaouch S., Foyer C.H. Glutathione // *The Ara-*

bidopsis Book: American Society of Plant Biologists, 2011. – P. 2-32.

Rautenkranz A. F., Li L., Machler F., Martinoia E., Oertli J. J. Transport of Ascorbic and Dehydroascorbic Acids across Protoplast and Vacuole Membranes Isolated from Barley (*Hordeum vulgare* l. cv Gerbel) Leaves // Plant Physiol., 1994. – V. 106. – P. 187-193.

Scarponi L., Quagliarini E., Buono D.D. Induction of wheat and maize glutathione S-transferase by some herbicide safeners and their effect on enzyme activity against butachlor and terbuthylazine // Pest. Manag. Sci., 2006. – V. 62. – P.927–932.

Tommasini R., Martinoia E., Grill E., Dietz K.-J., Amrhein N. Transport of oxidized glutathione into barley vacuoles: evidence for the involvement of the glutathione-S-conjugate ATPase // Zeitschrift Naturforsch, 1993. – V. 48. – P. 867-871.

## ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ *BETULA PENDULA* ROTH В УСЛОВИЯХ РАЗНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ НИТРАТНЫМ АЗОТОМ

В.Б. Придача, Е.В. Евдокимова, Т.А. Сазонова

Институт леса Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, pridacha@krc.karelia.ru

Происходящие изменения климата и антропогенная деятельность оказывают заметное влияние на наземные экосистемы [Walther, 2004]. Наиболее выраженные реакции растительности на изменения окружающей среды ожидают в районах с экстремальными климатическими и почвенными условиями, а также при высоком уровне антропогенного воздействия. В условиях Северо-Запада России основными лесообразующими видами являются древесные рода *Betula* наряду с растениями родов *Pinus* и *Picea*. Различные условия произрастания обуславливают высокий полиморфизм фенотипических признаков представителей рода *Betula*. Особый интерес для исследователей представляет карельская береза (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Merclin) Hämet Ahti) в связи с выявлением механизмов формирования структурных аномалий [Новицкая, 2008]. Согласно концепции Л.Л. Новицкой [2008], карельская береза является экологической формой березы повислой (*Betula pendula* Roth), естественный ареал которой занимает очень небольшую часть ареала березы повислой.

Вопрос о роли воздействия факторов среды на формирование узорчатой древесины карельской березы широко обсуждается в литературе [Ермаков, 1986; Ветчинникова, 2004; Новицкая, 2008]. Важную роль в комплексе внешних факторов, индуцирующих аномальный рост, отводят уровню почвенного плодородия, в частности азотного питания [Новицкая, 2008]. В свою очередь изменения структурной организации тканей ствола, вероятно, должны сказываться на процессах обмена. В этой связи представляет интерес комплексное изучение показателей  $H_2O$  и  $CO_2$  обмена обычной березы повислой (*Betula pendula* var. *pendula*) и карельской березы (*Betula pendula* var. *carelica*) при разной обеспеченности среды основными элементами минерального питания.

Исследование проводили на экспериментальных участках Института леса КарНЦ РАН на территории Агробиологической станции КарНЦ РАН (южная Карелия, N 61°45', E 34°20'). В качестве объектов исследований были выбраны 6-летние растения обычной березы повислой (*Betula pendula* var. *pendula*) с прямослойной древесиной и карельской березы (*Betula pendula* var. *carelica*) с узорчатой древесиной, произрастающие в полевых условиях на двух участках: 1) без внесения удобрений – контроль, 2) с внесением азота ( $KNO_3$ ) – опыт. В опыте под каждое дерево однократно вносили 20 л 50 мМ раствора  $KNO_3$ , что соответствует высокой дозе нитратов для выращивания сеянцев древесных пород [Справочник..., 1986], в контроле - соответственно, 20 л  $H_2O$ .

Биологическая повторность трехкратная.

Измерение устьичной проводимости ( $g_s$ ), интенсивности фотосинтеза ( $A$ ) и транспирации ( $E$ ) листа проводили в дневной динамике с 9.00 до 15.00 в июле 2012 г. на отделенных листьях в средней части кроны деревьев березы с помощью портативной фотосинтетической системы LI-COR 6400XT (LI-COR Inc., США). В работе использовали стандартную листовую камеру с источником света LI-COR 6400-02B LED (LI-COR Inc., США). Наблюдения проводили на сформировавшихся листьях при одинаковых условиях в листовой камере: освещенность, концентрация  $\text{CO}_2$  и интенсивность потока воздуха составили, соответственно,  $1600 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ ,  $400 \text{ мкмоль CO}_2 \text{ моль}^{-1}$  и  $500 \text{ мкмоль с}^{-1}$ . Температура воздуха и листа в измерительной камере составили в среднем  $23.56 \pm 0.10$  и  $24.84 \pm 0.12$  °C, соответственно.

Для определения других показателей водообмена со средней части кроны каждого растения отбирали по 3 облиственных побега и 10 листьев с соседних побегов. В облиственных побегах определяли водный потенциал ( $\Psi$ ) с помощью камеры давления Plant Moisture Vessel SKPM 1400 (Skye Instruments Ltd., Великобритания). На отрезанных листьях определяли свежую массу ( $W_f$ ), массу при насыщении ( $W_s$ ), сухую массу листьев ( $W_d$ ). Содержание воды в листьях ( $WC_f$ ), дефицит водного насыщения ( $WSD$ ) и насыщающее содержание воды ( $WC_s$ ) определяли по формулам (1), (2) и (3):

$$WC_f = W_f - W_d / W_d \quad (\Gamma_{\text{воды}} \Gamma_{\text{сух.массы}}^{-1}) \quad (1)$$

$$WSD = W_s - W_f / W_s - W_d \quad (\%) \quad (2)$$

$$WC_s = W_s - W_f / W_d \quad (\Gamma_{\text{воды}} \Gamma_{\text{сух.массы}}^{-1}) \quad (3)$$

Фотосинтетическую эффективность использования воды ( $WUE$ ) определяли как отношение фотосинтеза ( $A$ ) к уровню транспирации ( $E$ ) [Dang et al., 1991]. Эффективность использования азота ( $NUE$ ) определяли как отношение фотосинтеза ( $A$ ) к содержанию азота в листе [Ellsworth, Reich, 1992]. Определение содержания азота ( $N$ ) выполняли после мокрого озоления согласно общепринятым методикам [Методы ..., 1987]. Аналитическая повторность трехкратная.

В ходе проведенного эксперимента нами были установлены следующие закономерности. Сравнительный анализ содержания азота на единицу листовой поверхности ( $\text{г м}^{-2}$ ) саженцев березы контрольного и опытного вариантов выявил тенденцию уменьшения исследуемого показателя как для обычной березы повислой, так и для карельской березы после внесения высокой дозы нитратов. Так, например, содержание  $N$  в листе саженцев берез после внесения нитратов по сравнению с контролем у березы повислой и карельской березы уменьшилось, соответственно, на 4 и 10 % и составило  $3.51$  и  $3.20 \text{ г м}^{-2}$  соответственно.

Анализ показателей  $\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{CO}_2$  обмена также выявил однонаправленную реакцию березы повислой и карельской березы на внесение высоких доз азотных удобрений. Нами была установлена тенденция снижения устьичной проводимости ( $g_s$ ), интенсивности фотосинтеза ( $A$ ), транспирации ( $E$ ), водного потенциала ( $\Psi$ ), содержания воды ( $WC_f$ ) и водного дефицита ( $WSD$ ) листа для обеих исследуемых форм берез при подкормке растений нитратами. Так, в контроле значения  $g_s$ ,  $A$ ,  $E$ ,  $\Psi$ ,  $WC_f$  и  $WSD$  листа березы повислой и карельской березы составили, соответственно,  $0.29$  и  $0.23 \text{ моль H}_2\text{O м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ ,  $18.26$  и  $17.51 \text{ мкмоль CO}_2 \text{ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ ,  $3.28$  и  $2.99 \text{ млмоль H}_2\text{O м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ ,  $-1.08$  и  $-0.94 \text{ МПа}$ ,  $1.36$  и  $1.35 \Gamma_{\text{воды}} \Gamma_{\text{сух.массы}}^{-1}$ ,  $22.63$  и  $22.77 \%$ . Снижение значений  $g_s$ ,  $A$ ,  $E$ ,  $\Psi$ ,  $WC_f$  и  $WSD$  листа березы повислой в опыте по сравнению с контролем составило, соответственно, 14, 8, 5, 19, 7 и 18 %, у карельской березы – 17, 6, 15, 37, 4 и 35 % соответственно. Этот факт, вероятно, обусловлен тем, что при внесении высоких доз нитратов в почву происходит увеличение концентрации почвенного раствора и, соответственно, снижение  $\Psi$  почвенного раствора. Это в свою очередь затрудняет поступление воды и питательных веществ в корни, вследствие чего происходит снижение исследуемых показателей ли-



ста обеих форм берез. Снижение  $WSD$  листа берез, который, казалось бы, должен усиливаться при внесении высоких доз азотных удобрений, вероятно, обусловлено некоторым ограничением транспирации, контролируемой устьицами посредством уменьшения  $g_s$ . Ранее также было показано [Wendler, Millard, 1996; и др.], что *Betula pendula* относится к видам, избегающим засуху в большей степени, чем переносящим ее, вследствие чего при недостатке воды снижение интенсивности транспирации листа происходит в результате закрытия устьиц. Кроме того, в условиях высокого содержания азота в почве ограничение устьичной проводимости и интенсивности транспирации и, соответственно, снижение фотосинтеза травянистых растений связывают с увеличением гидравлического сопротивления транспортных путей [Streeter, 1988].

Сопоставление коэффициентов эффективности использования воды ( $WUE$ ) и азота ( $NUE$ ) листа исследуемых форм берез выявило их сходство в контрольном варианте и разнонаправленные изменения в варианте с удобрениями. Так, значения  $WUE$  и  $NUE$  листа березы повислой и карельской березы в контроле были близки и составили, соответственно, 0.57, 0.59 мкмоль  $CO_2$  млмоль<sup>-1</sup>  $H_2O$  и 4.99, 4.90 мкмоль  $CO_2$  г<sup>-1</sup> N. После внесения нитратов значения  $WUE$  и  $NUE$  листа березы повислой уменьшились на 5 % и составили 0.54 мкмоль  $CO_2$  млмоль<sup>-1</sup>  $H_2O$  и 4.73 мкмоль  $CO_2$  г<sup>-1</sup> N соответственно; у карельской березы, напротив,  $WUE$  и  $NUE$  увеличились на 10 и 5 % и составили, соответственно, 0.65 мкмоль  $CO_2$  млмоль<sup>-1</sup>  $H_2O$  и 5.16 мкмоль  $CO_2$  г<sup>-1</sup> N. Факт роста коэффициентов  $WUE$  и  $NUE$  листа карельской березы, по сравнению с березой повислой, вероятно, может свидетельствовать о более экономном расходовании влаги и более активном включении азота в метаболические процессы в условиях высокой обеспеченности почвы нитратами.

Таким образом, в фоновых условиях более высокие значения  $g_s$ ,  $A$ ,  $E$  и  $\Psi$  листа отмечены для обычной березы повислой, по сравнению с карельской березой, и близкие значения  $WC_f$ ,  $WSD$ ,  $WUE$  и  $NUE$  листа обеих исследуемых форм берез. При внесении высокой дозы нитратов установлена тенденция снижения показателей  $H_2O$  и  $CO_2$  обмена листа обеих форм берез. Однако более существенные изменения значений  $E$ ,  $\Psi$ ,  $WSD$  и  $WUE$  отмечены для карельской березы, что может свидетельствовать о большей лабильности карельской березы и, напротив, большей стабильности березы повислой к действию высоких доз нитратного азота.

#### Литература

- Ветчинникова Л.В. Береза: вопросы изменчивости (морфофизиологические и биохимические аспекты). – М.: Наука, 2004. – 183 с.
- Ермаков В.И. Механизмы адаптации березы к условиям Севера. – Л.: Наука, 1986. – 144 с.
- Методы биохимического исследования растений. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
- Новицкая Л.Л. Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий. – Петрозаводск: Verso, 2008. – 144 с.
- Справочник по удобрениям в лесном хозяйстве / Под ред. В.С. Победова. – Изд. 2. – М.: Агропромиздат, 1986. – 172 с.
- Dang Q.L., Lieffers V.J., Rothwell R.L., MacDonald S.E. Diurnal variation and interrelations of ecophysiological parameters in the three petland woody species under different weather and soil moisture conditions // *Oecologia*. – 1991. – Vol. 88. – P. 317-324.
- Ellsworth D.S., Reich P.B. Leaf mass per area, nitrogen content and photosynthetic carbon gain in *Acer saccharum* seedlings in contrasting forest light environments // *Funct. Ecol.* – 1992. – Vol. 6. – P. 423-435.
- Streeter J.G. Inhibition of legume nodule formation and nitrogen fixation by nitrate //

Crit. Rev. Plant Sci. – 1988. – Vol. 7. – P. 1-23.

Walther G.R. Plants in a warmer world // Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics. – 2004. – Vol. 6. – P. 169-185.

Wendler R., Millard P. Impacts of water and nitrogen supplies on the physiology, leaf demography and nitrogen dynamics of *Betula pendula* // Tree Physiol. – 1996. – Vol. 16. – P. 153-159.

## ВОДОУДЕРЖИВАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ЛИСТЬЕВ ПИОНОВ В СВЯЗИ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЗАСУХЕ

А.А. Реут, Л.Н. Миронова

Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН, Уфа, [cvetok.79@mail.ru](mailto:cvetok.79@mail.ru)

Известно, что водный режим местообитания определяет важнейшие процессы жизнедеятельности растений. Поэтому показатели водного обмена интродуцентов выступают как критерии для оценки их устойчивости к неблагоприятным факторам среды. При этом скорость водоотдачи листьями является одним из важнейших физиологических показателей, диагностирующих устойчивость растений к засухе [Таренков, Таренкова, 1985]. Известно, что в зависимости от водоснабжения растения проявляют неодинаковую устойчивость к атмосферной засухе. Чем выше потеря воды листьями, тем меньше их водоудерживающая способность.

Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН (далее БСИ) расположен в лесостепной зоне Башкирского Предуралья. В климатическом отношении этот район характеризуется большой амплитудой колебаний температур в ее годовом ходе, неустойчивостью и недостатком атмосферных осадков, быстрым переходом от суровой зимы к жаркому лету [Григорьев и др., 2002]. Поэтому актуально выявление видов, высоко адаптированных к резко континентальным условиям региона.

Выявление засухоустойчивых культур представляет большой теоретический и практический интерес. При этом одним из важных показателей устойчивости растений является водоудерживающая способность листьев.

Целью работы было определение оводненности и водоудерживающей способности листьев пионов при интродукции в лесостепную зону Башкирского Предуралья.

Для оценки влияния засух и устойчивости к ним пионов важно исследовать, в первую очередь, следующие основные параметры: общая оводненность листьев; водоудерживающая способность листьев; суточные потери воды листьями. Оводненность листьев – это наиболее доступный показатель оценки водного состояния клеток.

Объектами исследования были 12 видов пиона коллекции БСИ: *P. hybrida*, *P. tenuifolia*, *P. intermedia*, *P. mlokosewitschii*, *P. anomala*, *P. officinalis*, *P. officinalis plena*, *P. wittmanniana*, *P. peregrina*, *P. suffruticosa*, *P. delavayi*, *P. lactiflora*.

Оценку водного режима осуществляли по методикам Н.А. Гусева [1966], В.А. Таренкова, Л.Н. Ивановой [1990]. Для определения данного показателя отбирали пробу листьев у сортов пиона, отсчитывали по 10 листовых пластинок и взвешивали их. Пробы листьев оставляли на воздухе на обезвоживание. Повторное взвешивание проводили через 24 часа. Далее образцы в течение 2 часов выдерживали в сушильном шкафу при 105-110°C. Рассчитывали общую оводненность, водоудерживающую способность, содержание "подвижной" влаги в пробах в соответствии с методикой.

При анализе особенностей водного режима листьев изученных видов пиона выявлено, что общая оводненность во второй – третьей декадах мая (фаза бутонизации) составляет от 74,3 (*P. officinalis plena*) до 80,8% (*P. mlokosewitschii*); в первой декаде июня

(фаза цветения) – от 73,2 (*P. officinalis plena*) до 79,2% (*P. delavayi*); в третьей декаде июня (фаза отцветания) – от 65,1 (*P. mlokosewitschii*) до 74,5% (*P. delavayi*); в августе (фаза плодоношения) – от 60,6 (*P. mlokosewitschii*) до 72,8% (*P. anomala*). Таким образом, показатели общей оводненности листьев данных видов пиона не сильно отличаются между собой.

В работах ряда авторов отмечается, что водоудерживающая способность – один из важных показателей водного режима растений и, в частности, их устойчивости к неблагоприятным условиям среды. Растения менее выносливые часто имеют более низкий уровень данного показателя [Таренков, Иванова, 1990].

Наиболее высокой водоудерживающей способностью (68,2 - 71,1%) в фазе бутонизации характеризуются *P. intermedia*, *P. wittmanniana*, *P. lactiflora*; в фазу цветения по данному показателю лидируют *P. peregrina*, *P. lactiflora*, *P. intermedia* (68,1 – 70,6%); в фазу отцветания - *P. intermedia*, *P. lactiflora* (57,2 и 59,0% соответственно); в фазу плодоношения - *P. officinalis*, *P. lactiflora* (34,9 и 39,8%). Следовательно, весь вегетационный период эти виды обладают наиболее высокой устойчивостью к засухе. Самые низкие показатели водоудерживающей способности отмечены: в фазу бутонизации - у *P. suffruticosa*, *P. delavayi* (49,6 и 52,2%); в фазу цветения – у *P. suffruticosa*, *P. delavayi* (42,5 и 44,1%); в фазу отцветания – у *P. delavayi* (24,5%); в фазу плодоношения – у *P. hybrida*, *P. wittmanniana* (5,9 и 8,6%). Все оставшиеся пионы имеют промежуточные показатели водоудерживающей способности: от 56,7 (*P. officinalis plena*) до 66,9% (*P. officinalis*) в фазу бутонизации; от 51,7 (*P. officinalis plena*) до 68,0% (*P. anomala*) в фазу цветения; от 39,5 (*P. wittmanniana*) до 48,5% (*P. anomala*) в фазу отцветания; от 10,9 (*P. officinalis plena*) до 31,7 (*P. anomala*) в фазу плодоношения.

У большинства изученных видов пиона водоудерживающая способность максимальна в фазу бутонизации, а к фазе плодоношения она значительно уменьшается (в 1,8-10,2 раза), то есть по мере образования и созревания семян водоудерживающая способность листьев снижается.

На основе данных, представленных выше, были построены следующие ряды:

1. По общей оводненности листьев:

а) в фазу бутонизации: *P. officinalis plena* < *P. hybrida* < *P. officinalis* < *P. suffruticosa* < *P. delavayi* < *P. tenuifolia* < *P. peregrina* < *P. lactiflora* < *P. intermedia* < *P. anomala* < *P. mlokosewitschii* < *P. wittmanniana*

б) в фазу цветения: *P. officinalis plena* < *P. tenuifolia* < *P. suffruticosa* < *P. officinalis* < *P. wittmanniana* < *P. hybrida* < *P. mlokosewitschii* < *P. lactiflora* < *P. intermedia* < *P. anomala* < *P. peregrina* < *P. delavayi*

в) в фазу отцветания: *P. mlokosewitschii* < *P. officinalis plena* < *P. peregrina* < *P. hybrida* < *P. tenuifolia* < *P. wittmanniana* < *P. suffruticosa* < *P. officinalis* < *P. lactiflora* < *P. delavayi* < *P. intermedia* < *P. anomala*

д) в фазу плодоношения: *P. mlokosewitschii* < *P. hybrida* < *P. officinalis plena* < *P. wittmanniana* < *P. lactiflora* < *P. peregrina* < *P. tenuifolia* < *P. suffruticosa* < *P. officinalis* < *P. intermedia* < *P. delavayi* < *P. anomala*

2. По водоудерживающей способности листьев:

а) в фазу бутонизации: *P. suffruticosa* < *P. delavayi* < *P. officinalis plena* < *P. mlokosewitschii* < *P. hybrida* < *P. tenuifolia* < *P. peregrina* < *P. anomala* < *P. officinalis* < *P. intermedia* < *P. wittmanniana* < *P. lactiflora*

б) в фазу цветения: *P. suffruticosa* < *P. delavayi* < *P. officinalis plena* < *P. wittmanniana* < *P. tenuifolia* < *P. hybrida* < *P. officinalis* < *P. mlokosewitschii* < *P. anomala* < *P. peregrina* < *P. lactiflora* < *P. intermedia*

в) в фазу отцветания: *P. delavayi* < *P. wittmanniana* < *P. suffruticosa* < *P. hybrida* < *P. officinalis* < *P. peregrina* < *P. tenuifolia* < *P. mlokosewitschii* < *P. officinalis plena* < *P.*

*anomala* < *P. intermedia* < *P. lactiflora*

д) в фазу плодоношения: *P. hybrida* < *P. wittmanniana* < *P. officinalis* plena < *P. suffruticosa* < *P. tenuifolia* < *P. intermedia* < *P. delavayi* < *P. mlokosewitschii* < *P. peregrina* < *P. anomala* < *P. officinalis* < *P. lactiflora*

Таким образом, при наблюдении за водообменом листьев видов пиона на протяжении периода вегетации установлено, что водоудерживающая способность снижается в связи со старением тканей и с уменьшением количества доступной корням растений воды в почве. Причем, это уменьшение происходит в разной мере и зависит от наследственных биологических свойств пионов, от приспособленности к высоким летним температурам почвы и воздуха, а также к пониженной влажности воздуха и почвы в период вегетации. На основе выше охарактеризованных особенностей водного режима листьев изученных видов пиона можно заключить, что наиболее приспособлены к засушливым периодам в условиях культивирования в лесостепной зоне Башкирского Предуралья следующие виды пиона: *P. lactiflora*, *P. intermedia*, *P. officinalis*; наименее засухоустойчивы – *P. suffruticosa*, *P. delavayi*, *P. hybrida*.

Водоудерживающая способность листьев может быть использована при проведении работ по интродукции растений как диагностический показатель на засухоустойчивость.

#### Литература

Григорьев И.Н., Соломещ А.И., Алимбекова Л.М., Онищенко Л.И. Влажные луга Республики Башкортостан: синтаксономия и вопросы охраны - Уфа: Гилем, 2002. – 157 с.

Гусев Н.А. Физиология водообмена растений. – Казань: изд-во КГУ, 1966. -136 с.

Таренков В.А., Иванова Л.Н. Водоудерживающая способность листьев боярышника в связи с устойчивостью к засухе // Интродукция, акклиматизация, охрана и использование растений. – Куйбышев: Куйбышевский госуниверситет, 1990. – С. 3-9.

Таренков В.А., Таренкова З.Г. Общая обводненность - важный показатель водообмена растений // Интродукция, акклиматизация, охрана и использование растений. - Куйбышев: Куйбышевский госуниверситет, 1985. - С. 18-23.

## ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ ПРИ СТРЕССЕ

Е.Г. Рихванов

Сибирский институт физиологии и биохимии растений, Иркутск, eugene@sifibr.irk.ru

Чтобы защитить себя от повреждающего теплового воздействия, клетки синтезируют белки теплового шока (БТШ или HSP, heat shock proteins) [Saidi et al., 2011]. Экспрессия БТШ регулируется факторами теплового шока (ФТШ). В обычных условиях ФТШ находится в неактивном, мономерном состоянии. При тепловом стрессе момеры образуют тримеры, которые перемещаются в ядро, где связываются с элементами теплового шока, *HSE* (heat shock element), присутствующими в промоторах генов БТШ. Согласно классической теории, транскрипционная активность ФТШ ингибируется в результате взаимодействия с HSP90 и HSP70. При повышении температуры в клетке появляются денатурированные белки, которые взаимодействуют с шаперонами, что приводит к выходу HSP90 и HSP70 из комплекса с ФТШ. В результате ФТШ активирует экспрессию БТШ [0]. Однако это теория не объясняет, почему обработка агентами, которые не вызывают появления денатурированных белков, тем не менее, приводит к

экспрессии БТШ [0]. Более того, непосредственно продемонстрировано, что активация экспрессии генов БТШ при повышении температуры может происходить независимо от появления денатурированных белков [Saidi et al., 2011]. Эти обстоятельства указывают, что денатурированные белки не являются обязательным условием для активации экспрессии БТШ. С другой стороны, в литературе появились достаточные основания полагать, что усиление генерации АФК и кратковременное повышение уровня  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле ( $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ ) может оказывать значительное влияние на экспрессию БТШ [Saidi et al., 2011].

Анализ литературных данных и собственных исследований автора позволяет предположить следующую гипотетическую последовательность функционирования кальциевой сигнальной системы у растений при повышении температуры. В отсутствие стресса в цитозоле растительной клетки концентрация свободного  $\text{Ca}^{2+}$  составляет 100 нМ. Гораздо больше  $\text{Ca}^{2+}$  содержится апопласте (0,33 мМ), в вакуолях (0,2 – 5 мМ), эндоплазматическом ретикулуме (0,05 - 0,5 мМ) и митохондриях (200 нМ) [0]. Тепловой стресс вызывает повышение уровня циклических нуклеотидов (цАМФ и цГТФ), которые стимулируют открытие  $\text{Ca}^{2+}$ -проницаемых каналов CNGC на плазматической мембране [0, 0]. Активация  $\text{Ca}^{2+}$ -проницаемых каналов наблюдается также в результате изменения состава липидов и усиления генерации АФК [0]. Одновременно (или последовательно) в растительной клетке активируется фосфолипаза С, в результате функционирования которой в клетке повышается содержание инозитол 1,4,5-трифосфата,  $\text{IP}_3$  [0]. Далее  $\text{IP}_3$  стимулирует освобождение  $\text{Ca}^{2+}$  из вакуолей или эндоплазматического ретикулума [0, 0].

Катионы  $\text{Ca}^{2+}$ , оказавшись в цитозоле, активируют кальмодулин, который взаимодействует со своими белками-мишенями и изменяет их активность. В число мишеней кальмодулина, важных для активации экспрессии БТШ входят  $\text{Ca}^{2+}$ /CaM-зависимая протеинкиназа 3 СВК3 [0], серин/треониновая фосфатаза PP7 [0], пептидил пролил цис/транс изомераза ROF1 (*AtFKBP62*) [0] и HSP70 [0]. Киназа СВК3 и фосфатаза PP7 фосфорилируют и дефосфолируют, соответственно, ФТШ по определенным аминокислотным остаткам. Взаимодействие кальмодулина с ROF1 и HSP70 приводит к освобождению ФТШ из комплекса с HSP70 и HSP90.

Все перечисленные события ведут к транскрипционной активации ФТШ и инициации экспрессии БТШ [0]. Повышение температуры выше критического уровня вызывает чрезмерное повышение  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  [0]. В этом случае экспрессия БТШ ингибируется и развивается запрограммированная гибель клеток, ПГК [0]. Развитие ПГК определяется способностью  $\text{Ca}^{2+}$  активировать MAP киназу 6 (MPK6), которая индуцирует экспрессию гена  $\gamma\text{VPE}$ , кодирующего вакуолярный процессирующий фермент (цистиновую протеазу), обладающий каспазоподобной активностью [Li et al., 2012].

Чтобы повышение уровня  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  активировало экспрессию генов БТШ необходимо, чтобы это повышение происходило в определенное время [0], было кратковременным и не превышало определенного уровня [Пятрикас и др., 2013]. Необходимый уровень  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$  достигается в результате согласованного функционирования  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз и  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -обменников, которые выкачивают избыток  $\text{Ca}^{2+}$  из цитозоля в апопласт или депонируют его в вакуоль или ЭПР [0]. Также как и в клетках животных [0], митохондрия растительной клетки является временным хранилищем  $\text{Ca}^{2+}$  в стрессовых условиях [Logan, Knight, 2003]. При тепловом стрессе кальций транспортируется из цитозоля в митохондрии в зависимости от митохондриального потенциала, мтΔψ [Пятрикас и др., 2013]. Поступление положительно-заряженного катиона в митохондрии, где внутренняя митохондриальная мембрана заряжена положительно, приводит к временному снижению мтΔψ. На следующем этапе  $\text{Ca}^{2+}$  активирует пируватдегидрогеназу [0], что повышает уровень НАДН и НАДФН, усиливает транспорт электронов по дыха-

тельной цепи и, соответственно, выброс  $H^+$  из матрикса митохондрий. Все эти события в итоге приводят к повышению мТДψ [0, Пятрикас и др., 2013]. Повышению мТДψ может также способствовать снижение содержания АДФ в матриксе, в результате подавления активности АДФ/АТФ транслокатора. Если мТДψ понизить в результате обработки митохондриальными ингибиторами, то транспорт  $Ca^{2+}$  в митохондрии подавляется [0], он аккумулируется в цитозоле до критического уровня, при котором активация экспрессии БТШ ингибируется [0, Пятрикас и др., 2013]. Повышение мТДψ сопровождается усилением генерации АФК, что также активирует экспрессию БТШ [0]. Чрезмерное повышение концентрации  $Ca^{2+}$  в митохондриях приводит к открытию митохондриальной поры, деполяризации внутренней митохондриальной мембраны, выходу цитохрома *c* из митохондрий, и, в конечном счете, активации программы самоубийства. Митохондрии, таким образом, выступают как передатчик и реле кальциевого сигнала, модулируют уровень  $[Ca^{2+}]_{цит}$  и продукцию АФК, и, тем самым, определяют жизнь и смерть растения при тепловом воздействии.

#### Литература

Медведев С.С. Кальциевая сигнальная система растений // Физиология растений, 2005. - №1. - С. 1–24.

Пятрикас Д.В., Рихванов Е.Г., Федосеева И.В., Варакина Н.Н., Русалева Т.М., Таусон Е.Л., Степанов А.В., Боровский Г.Б., Войников В.К. Митохондриальная ретроградная регуляция экспрессии *HSP101 Arabidopsis thaliana* при тепловом стрессе и действии амиодарона // Физиология растений, 2013. Принято к печати.

Gao F., Han X., Wu J., Zheng S., Shang Z., Sun D., Zhou R., Li B. A Heat-activated calcium-permeable channel-Arabidopsis cyclic nucleotide-gated ion channel 6-is involved in heat shock responses // Plant J., 2012. - №6. - P. 1056-1069.

Gong M., van der Luit A., Knight M., Trewavas A. Heat-shock-induced changes in intracellular  $Ca^{2+}$  level in tobacco seedlings in relation to thermotolerance // Plant Physiol., 1998. - №1. - P.429-437.

Graier W.F., Frieden M., Malli R. Mitochondria and  $Ca^{2+}$  signaling: old guests, new functions // Pflugers Arch., 2007. - №3. - P. 375-396.

Li Z., Yue H., Xing D. MAP kinase 6-mediated activation of vacuolar processing enzyme modulates heat shock-induced programmed cell death in Arabidopsis // New Phytol., 2012. - №1. - P. 85-96.

Liu H.T., Gao F., Li G.L., Han J.L., Liu D.L., Sun D.Y., Zhou R.G. The calmodulin-binding protein kinase 3 is part of heat shock signal transduction in *Arabidopsis thaliana* // Plant J., 2008. - №5. - P. 760-773.

Liu H.T., Li G.L., Chang H., Sun D.Y., Zhou R.G., Li B. Calmodulin-binding protein phosphatase PP7 is involved in thermotolerance in Arabidopsis // Plant Cell Environ., 2007. - №2. - P. 156-164.

Logan D., Knight M.R. Mitochondrial and cytosolic calcium dynamics are differentially regulated in plants // Plant Physiol., 2003. - №1. - P. 21-24.

Meiri D., Breiman A. Arabidopsis ROF1 (FKBP62) modulates thermotolerance by interacting with HSP90.1 and affecting the accumulation of HsfA2-Regulated sHsps // Plant J., 2009. - №3. - P. 387-399.

Rikhvanov E.G., Gamburg K.Z., Varakina N.N., Rusaleva T.M., Fedoseeva I.V., Tauson E.L., Stupnikova I.V., Stepanov A.V., Borovskii G.B., Voinikov V.K. Nuclear-mitochondrial cross-talk during heat shock in Arabidopsis cell culture // Plant J., 2007. - №4. - P. 763-78.

Saidi Y., Finka A., Goloubinoff P. Heat perception and signalling in plants: a tortuous path to thermotolerance // New Phytol., 2011. - №3. - P. 556-565.

Scharf K.D., Berberich T., Ebersberger I., Nover L. The plant heat stress transcription factor (hsf) family: structure, function and evolution // *Biochim. Biophys. Acta.*, 2012. – №2. – P. 104-119.

Stael S., Wurzinger B., Mair A., Mehlmer N., Vothknecht U.C., Teige M. Plant organellar calcium signalling: an emerging field // *J. Exp. Bot.*, 2012. - №4. - P. 1525-1542.

Sun X.T., Li B., Zhou G.M., Tang W.Q., Bai J., Sun D.Y., Zhou R.G. Binding of the maize cytosolic Hsp70 to calmodulin, and identification of calmodulin-binding site in Hsp70 // *Plant Cell Physiol.*, 2000. - №6. - P. 804-810.

Tunc-Ozdemir M., Tang C., Ishka M.R., Brown E., Groves N.R., Myers C.T., Rato C., Poulsen L.R., McDowell S., Miller G., Mittler R., Harper J.F. A cyclic nucleotide-gated channel (CNGC16) in pollen is critical for stress tolerance in pollen reproductive development // *Plant Physiol.*, 2013. - №2. - P. 1010-1020.

Zheng S.Z., Liu Y.L., Li B., Shang Z.L., Zhou R.G., Sun D.Y. Phosphoinositide-specific phospholipase C9 is involved in the thermotolerance of *Arabidopsis* // *Plant J.*, 2012. - №4. - P. 689-700.

## **ЛИПИДЫ ГАЛОФИТОВ СЕМЕЙСТВА *CHENOPODIACEAE* VENT.: СОДЕРЖАНИЕ, ДИНАМИКА, ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ ПРОИЗРАСТАНИЯ**

О.А. Розенцвет, В.Н. Нестеров, Е.С. Богданова

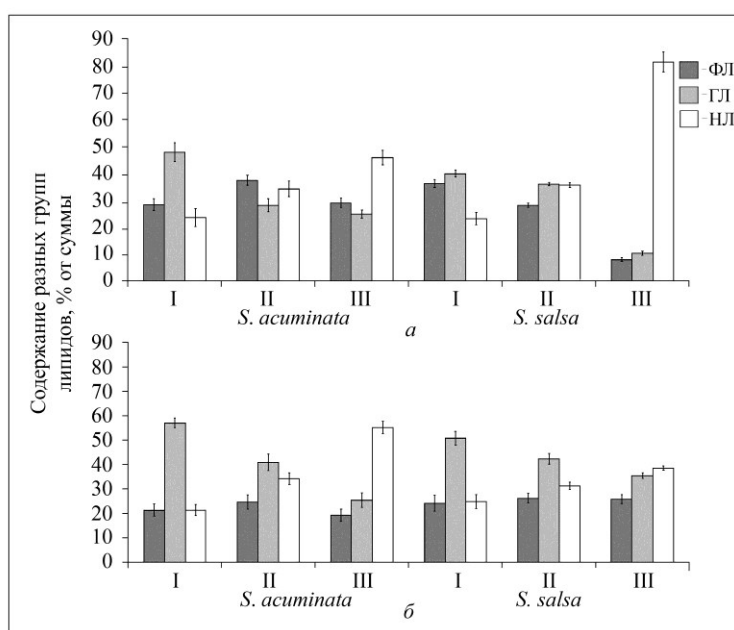
Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, olgarozen55@mail.ru

Высокие концентрации солей в почве создают особые экологические условия, существовать в которых может только небольшая важная в эволюционном плане группа растений-галофитов [Проблемы..., 2009]. Устойчивость растений к почвенному засолению обеспечивается разнообразными механизмами, как на уровне целого растения, так и на уровне отдельных клеток. Клеточные механизмы, согласно Строганову Б.П. (1962), разделяют на две группы. К первой группе относятся механизмы, регулирующие осмотические свойства клеток и оказывающие защитное действие (накопление пролина, полиаминов путресцина и др.) Ко второй группе относятся механизмы, регулирующие транспорт ионов из среды в клетку, с помощью ионных насосов электрохимических градиентов в мембранах [Лапина, Строганов, 1979; Балнокин и др., 2005]. Этот тип приспособлений связан с защитными функциями мембран, структурными элементами которых являются липиды [Hirayama, Mihara, 1987; Ivanova et al., 2006; Duan et al., 2007].

В данной работе изучали состав липидов листьев типичных эвгалофитов (соле-накапливающих растений) семейства *Chenopodiaceae* Vent. Объектами исследования были *Suaeda acuminata* (C.A. Mey) (сведа заостренная), *S. salsa* (L.) Pall. (сведа солончаковая), *S. eltonica* Piijin (сведа эльтонская), *S. linifolia* Pall. (сведа линейнолистная), *Halocnemum strobilaceum* (Pall.) M. Bieb (сарсазан). Растения отбирали в июне (I), июле (II) и сентябре (III) 2011 г. в устьевых участках шести рек (Большая и Малая Сморогда, Чернавка, Хара, Ланцуг, Солянка), расположенных на территории Волгоградской обл. и питающих оз. Эльтон (Приэльтоное). Одновременно отбирали образцы почвы на глубине 15-20 см для определения кислотности, влажности, температуры, а также химического анализа. Для биохимических анализов использовали листья из 15 – 20 растений, собранных на экспериментальных площадках размером 20 x 20 м. Из объединенной биомассы листьев составляли три независимых биологических пробы (2–4 г сырой массы), деферментировали кипящим изопропанолом. Выделение и анализ липидов прово-

дили методом тонкослойной хроматографии, как описано ранее [Розенцвиг и др., 2011]. Суммарное содержание липидов (СЛ) рассчитывали как сумму проанализированных отдельно нейтральных липидов (НЛ), глико- (ГЛ) и фосфолипидов (ФЛ). Жирные кислоты (ЖК) анализировали в виде метиловых эфиров, полученных кипячением в 5 % - ном растворе HCl в метаноле.

Показано, что условия произрастания растений отличались по уровню засоления, анионному составу и влажности почвы, которые изменялись в течение летне-осеннего периода. Детальный анализ состава липидов, их динамики, вариабельности в фотосинтезирующих органах эвгалофитов в условиях Приэльтонья позволил установить, что содержание СЛ и состав разных групп липидов зависел от стадии развития и условий среды. В частности, на примере двух видов *Suaeda* можно видеть, что содержание НЛ в большей степени зависело от стадии вегетации, а мембранных ГЛ и ФЛ – от условий биотопа (рис.).



**Рис. Динамика содержания разных групп липидов в листьях *S. acuminata* и *S. salsa*, со- бранных в устье р. Б. Сморогда (а) и р. Чернавка (б) в июне (I), июле (II) и сентябре (III).**

По результатам корреляционно – регрессионного анализа выявлена довольно тесная положительная связь ( $r = 0.69$  при  $p < 0.01$ ) между содержанием мембранных липидов в листьях *S. acuminata* и общим уровнем солености. В то же время в листьях *S. salsa* содержание мембранных липидов больше зависело от содержания сульфата в почве ( $r = -0.78$  при  $p < 0.01$ ). От содержания хлоридов, аммония и сульфатов в почве зависело соотношение ГЛ/ФЛ, характеризующих соотношение хлоропластных и непластидных мембран. В отношении ЖК установлено, что в листьях *S. acuminata* с увеличением содержания сульфатов увеличивалось содержание С 18:1 $\omega$ 9 и С 18:2n6 ( $r = 0.83$  и  $r = 0.88$  при  $p < 0.01$ , соответственно) на фоне снижения содержания С 18:3n3 ( $r = -0.88$  при  $p < 0.01$ ). В листьях *S. salsa* увеличивалось содержание С 16:0 ( $r = 0.66$  при  $p < 0.01$ ) на фоне снижения содержания 18:2n6 и С 18:3n3 (в обоих случаях  $r = -0.71$  при  $p < 0.01$ ) с увеличением содержания хлоридов. Выявлена также довольно высокая степень влияния уровня общей солености на содержание С 16:0, характерное для растений *S. salsa* ( $r = 0.72$  при  $p < 0.01$ ). Как видно, на состав ЖК в листьях *S. acuminata* в большей степени



оказывал влияние анионный состав солей, а на состав ЖК листьев *S. salsa* – как состав анионов, так и общий уровень солености.

Выявленные изменения в составе липидов и ЖК свидетельствует об участии и эффективности липидного обмена в функционировании механизмов, способствующих выживанию галофитов в условиях засоления почвы.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 12-04-0111-а.*

#### Литература

Балнокин Ю.И., Мясоедов Н.А., Шамсутдинов З.Ш., Шамсутдинов Н.З. Роль  $\text{Na}^+$  и  $\text{Ca}^+$  в поддержании оводненности тканей органов у галофитов сем. Chenopodiaceae различных экологических групп // Физиология растений, 2005. – Т. 52– №6.– С. 882-890.

Лапина Л.П., Строгонов Б.П. Локализация солей в клетках в связи с приспособлением растений к условиям засоления // Успехи современной биологии, 1979. – Т. 88. – Вып. 1(4). – С. 93-107.

Проблемы экспериментальной ботаники / Под. ред. Вл. В. Кузнецова. Купревичские чтения VII. – Минск: Тэхналогія, 2009. – 115 с.

Розенцвет О.А., Нестеров В.Н., Богданова Е.С. Влияние абиотических факторов на состав липидов *Ulva intestinalis* (L.) Link (Chlorophyta) в малых реках бассейна оз. Эльтон Прикаспийской низменности // Биол. внутрен. вод, 2012. – № 2. – С. 61-69.

Строганов Б.П., Кабанов В.В., Шевяков Н.И. и др. Структура и функции клеток при засолении. – М.: Наука, 1970. – 318 с.

Duan D.Y., Li W.-Q., Liu X.-J. et al. Seed germination and seedling growth of *Suaeda salsa* under salt stress // Ann. Bot. Fennici., 2007. – V 44. – P. 161-169.

Hirayama O., Mihara M. Characterization of Membrane Lipids of Higher Plants Different in Salt Tolerance // Agric. Biol. Chem., 1987. – V. 51. – P. 3215-3221.

Ivanova A., Nechev J., Stefanov K. Effect of soil salinity on the lipid composition of halophyte plants from the sand bar of Pomorie // Gen. Appl. Plant Physiology. Special Issue, 2006. – P. 125-130.

### **ЭЛИСИТОРЫ КАК ОДИН ИЗ ВОЗМОЖНЫХ ФАКТОРОВ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ПРИРОДНЫХ УСЛОВИЯХ И ТЕХНОГЕННОЙ СРЕДЕ**

И.Н. Рубан, Н.Л. Воропаева<sup>1</sup>, В.П. Варламов<sup>2</sup>,  
В.В. Карпачев<sup>1</sup>, О.Л. Фиговский<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ГНУ ВНИИ рпса Россельхозакадемии (Липецк, Россия), bionanotex\_1@mail.ru

<sup>2</sup>Центр «Биоинженерия» РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Nanotech Industries, Inc. Daly City, Ca, USA

Одним из важнейших направлений в разработке альтернативных методов в защите растений является, как известно, повышение их болезнеустойчивости под влиянием внешних факторов, протекающее без изменения генома, так называемой приобретенной или индуцированной устойчивости [Хохлов,2004; Кус,2004; Kesmann,1994; Yina,2010]. К настоящему времени выявлено большое число природных и синтетических соединений, индуцирующих устойчивость растений к болезням из разнообразных классов органических и неорганических веществ. Среди них особое место занимают олигосахариды.

Как показывает анализ литературных источников, продукты ферментативного

расщепления полисахаридов клеточных стенок растений содержат олигосахара, обладающие регуляторной активностью, которые способны как повышать, так и понижать устойчивость растений к патогенам [Озерецковская, 1996]. Целый ряд иммунных реакций у растений вызывает воздействие олигогалактонуроидов, которые индуцируют накопление фитоалексинов, в частности, например, глицеолина у сои, фазеолина у фасоли, касбена у клещевины и др. Их иммунорегулирующая активность зависит от степени полимеризации галактуроновых остатков, оптимальным значением которой является 9-15 единиц. При этом функции олигогалактуроноидов не ограничиваются только элиситорной активностью для образования фитоалексинов, но и способствуют стимуляции пектиновых ферментов, участвующих в их биогенезе, в том числе ингибиторов патогенных протеиназ.

Среди фрагментов гидролитического расщепления ксилоглюкана также выявлены иммуноактивные олигосахариды. В частности, показано, что олигосахаридные фрагменты ксилоглюкана гороха индуцировали развитие его устойчивости в отношении вируса табака, оказывая влияние на проницаемость клеточных мембран. Действие галактонуроидов на поверхность клетки растений коррелирует с индукцией ими защитных механизмов. Это, возможно, объясняется тем, что олигосахара, связываясь со специфическими рецепторами, включают триггерные механизмы иммунного статуса растений.

Наиболее выраженной индуцирующей способностью, как показывают многочисленные проведенные исследования, обладают олигомеры на основе аминокислот, входящие в состав хитина. Хитин не содержится в растениях, но является основным компонентом стенок грибов и внешнего покрова членистоногих [Варламов, 2002]. В растениях, однако, содержится фермент хитиназа, расщепляющий хитин и являющийся одним из составляющих их иммунной системы. При расщеплении хитина образуется олигохитозан - деацелированный аминокислотный олигоглюкан, который проявляет иммунорегулирующую активность в чрезвычайно низких концентрациях. Хитозан ингибирует хитиназу грибов в растениях, оказывает влияние на активность регуляторных генов растений, контролирующих синтез РНК [Hadwiger, 1981]. Хитозан вызывает образование фитоалексинов, например, решитина - в картофеле, пизатина - в горохе в концентрациях, близких к тем, которые возникают в растениях под воздействием несовместимых рас патогенов [Pospiesznu, 1991]. Тем самым хитозан повышает устойчивость растений к комплексу болезней, в частности, картофеля - к фитофторозу, пшеницы - к бурой ржавчине, овса - к пыльной головне, ячменя - к мучнистой росе, томатов - к фузариозным гнилям и др. [Yina, 2010; Benhamou 1994]. Однако для хитозана характерно и прямое фунгицидное действие [Ahmad, 1992]. Сочетание иммуноиндуцирующей активности со свойствами природного фунгицида и бактерицида обеспечивает хитозану стабильность защитного действия и высокую биологическую эффективность.

Использование олигохитозанов и их производных в составе экологически безопасных (нано)чипов [Ruban, 2012] на основе производных природных минералов, активных углей и полисахаридов природного происхождения с физиологически активными, а также фитосанитарными веществами природного и синтетического происхождения, при предпосевной обработке семян сурепицы выявило следующее.

Обработка семян сурепицы препаратами на основе олигохитозана способствовала увеличению числа проросших семян в первые сутки проращивания на 7,0 %, энергии прорастания на 1,25%, лабораторной всхожести на 1,75%, длины проростов на 6,7 мм - 16,0 мм, возрастанию их массы на 17,2% по сравнению с контролем (семена ничем не обработаны). Введение этих препаратов в (нано)чипы способствовало в зависимости от их состава по сравнению с контролем (семена ничем не обработаны) увеличению числа проросших семян до 95% (69% - в контроле), увеличению энергии прорастания до 99,25%, лабораторной всхожести до 99,50 %, длине проростов на 8,4

мм - 26,0 мм, возрастанию их массы на 37,9% и обеспечивало 75% -ую сохранность проростков в течение 40 дней проведения экспериментов (контроль погиб на 20 день проведения наблюдений). При этом препараты на основе олигохитозана, с одной стороны, усиливают неспецифический иммунитет растений, а с другой – в комплексных полифункциональных (нано)чипах снижают угнетающее воздействие пестицидов и фунгицидов на них.

Данная разработка позволит в будущем предложить сельскохозяйственному производству новую экологически безопасную (нано)технология предпосевной обработки семян на основе биопестицидов для возделывания масличных капустных культур.

#### Литература

Хохлов П. С., Шкаликов В. А., Орехов Д. А.. Химические индукторы в защите сельскохозяйственных растений от грибных, бактериальных и вирусных болезней//Агрохимия.- 2004.- N 4. – С. 86-96.

Озерецковская О.Л., Роменская И.Г. Олигосахариды как регуляторные молекулы растений // Физиология растений. - 1996. - Т. 43. - № 5. С. 743-751.

Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение // Под редакцией Варламова В.П. - Москва: Наука, 2002.-398 с.

Ahmad E.L., Chaouch I. A., Grenier J., Asselin A. Antifungal activity of chitosan on two Postharvest pathogens of strawberryfruits // Phytopathol. - 1992. - № 4. - P. 398-402.

Benhamou N., Lafontaine P.I., Nikole M. Induction of systemic resistance of Fusarium crown and root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan // Phytopathol. - 1994. - V. 84. - N 12. - P. 1432-1434.

Hadwiger L.A., Loschke D.C. Molecular communication in host-parasite interaction: Hexosamine polymers (chitosan) as regulator compounds in race-specific and other interaction // Phytopathol. - 1981. - V. 71. - № 1. - P.156-162.

Heng Yina, Xiaoming Zhao, Yuguang Du. Oligochitosan: A plant diseases vaccine—A review. / Heng Yina, Xiaoming Zhao, Yuguang Du // Carbohydrate Polymers. -2010. –V.82. - Issue 1, 2. – p.1-8.

Kesmann H., Staub T., Hofmann O., Mactzke J. et al. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals // Annu. Rev. Phythopathol. - 1994. - V. 32. - P. 439-459.

Kuc J. Development and future direction of induced systemic resistance in plants // Crop Protect. 2000. - P. 859-861.

Pospiesznu H, Chircov S., Atabekov J. Induction of antiviral resistance in plants by Chitosan // Plant Sci. - 1991. - V. 79. - P. 63-68.

Ruban I. N, Voropaeva N. L., Figovsky O. L.et.al. Biologically active multifunctional nanochips and method application thereof for production of high-quality seed // Patent USA 2459518. - 2012.

## **(НАНО)ЧИПЫ НА ОСНОВЕ РАЗЛИЧНЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ПРИРОДНЫХ УСЛОВИЯХ И ТЕХНОГЕННОЙ СРЕДЕ**

**И.Н. Рубан**, Н.Л. Воропаева<sup>1</sup>, В.П. Варламов<sup>2</sup>,  
В.В. Карпачев<sup>1</sup>, О.Л. Фиговский<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ГНУ ВНИИ рапса Россельхозакадемии (Липецк, Россия), bionanotex\_1@mail.ru

<sup>2</sup>Центр «Биоинженерия» РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Nanotech Industries, Inc. Daly City, Ca, USA

Данная работа направлена на реализацию одного из главных современных мировых приоритетов – нанотехнологическим новациям в агропромышленном секторе в сочетании с производством экологически абсолютно чистой (направление "organic agriculture"), "биосертифицированной" продукции для человечества, что позволит разработать новые безопасные, высокоэффективные и вместе с тем экологически чистые, относительно недорогие, базирующиеся на природных (натуральных) сырьевых источниках, (нано)технологии получения высококачественной сельскохозяйственной продукции [Семенов,2009; Беляк,2008].

Применение нанотехнологий в сельском хозяйстве (при выращивании зерна, овощей, растений и др.) и на пищевых производствах (при переработке и упаковке) приводит к рождению совершенно нового класса пищевых продуктов - «нанопродуктов», которые со временем вытеснят с рынка генномодифицированные. Как отмечается ведущими мировыми экспертами, уже через пару десятков лет использование нанопродуктов будет повсеместным. Важно отметить, что в Россию также приходят (нано)технологии, которые направлены на получение экологически безопасной продукции и, в конечном итоге, сориентированы на «нанопродукты». Все вышеизложенное свидетельствует об актуальности, новизне и своевременности проводимых исследований [Лялин,2009; Федоренко,2008].

Подходы, реализуемые в данной работе, базируются на интеграции нано-и агротехнологий, которые позволят в перспективе разработать продукты коммерциализации - комплексные экологически безопасные высокоэффективные (нано)материалы, повышающие эффективность различных средств защиты растений [Захаренко,2011].

В отличие от известных препаратов действующие вещества в (нано)материалах, как правило, находятся в иммобилизованном состоянии, за счет межмолекулярных взаимодействий распределяясь в «матрицах-носителях» с (нано)метровым диапазоном пор, на основе (нано)частиц различной природы (ионов металлов, производных минералов, природных олиго- и полисахаридов и других физиологически активных веществ) [Ruban,2012]. При обработке семян и растений на их поверхности в процессе высыхания формируются «композиционные» пленки, в которые «встраиваются» молекулы различных физиологически активных веществ, в том числе и природных органических компонентов, формируя их трехмерную структуру, имитирующую природные образования, что повышает их биологическую активность и специфическую способность связываться с поверхностью различных органов растений. Физико-химические свойства таких (нано)пленок препятствуют образованию капель, обеспечивают их высокую адгезионную прочность, селективность, гидрофильность и пролонгированность действия. Пролонгированность целевых свойств различных (нано)материалов для сельского хозяйства обеспечивает постепенное потребление оптимальных количеств физиологически активных веществ, снижая химическую нагрузку и повышая устойчивость растений к неблагоприятным факторам окружения.

Применение мало-, и нетоксичных (нано)чипов с включением в их состав природных адаптогенов и их производных, способствующих повышению толерантности семян и растений к неблагоприятным условиям окружения, позволяет резко снизить нормы расхода используемых химических средств защиты растений, или полностью их исключить в технологиях предпосевной подготовки семян различных сельскохозяйственных культур, что делает данную разработку значимой и в перспективе – востребованной в рамках концепции второй «зеленой» революции [Heng,2010; Гулидова,2010].

Экспериментальные исследования по формированию, стабилизации и изучению (нано)частиц и (нано)структур выполнены с привлечением современных физико-химических методов исследования и оборудования [Воропаева, 2012]. Выявлены эффективные (нано)чипы для предпосевной обработки семян различных сельскохозяйственных культур как в лабораторных, так и полевых опытах, изучены их физико-химические свойства и структурные особенности, а также установлено влияние разработанных полифункциональных многокомпонентных экологически безопасных (нано)чипов на рост, развитие, урожайность и качество семян изучаемых культур. Биологически активные (нано)чипы содержат необходимые ингредиенты для прорастания семян и их защиты от воздействия неблагоприятных факторов окружения и включают природные сорбционноемкие минералы, активные угли, стабилизаторы, регуляторы роста и развития растений, ингибиторы возбудителей заболеваний растений, микроэлементы питания, микроудобрения, иммуномодуляторы и другие физиологически активные, а также фитосанитарные вещества.

Применение элиситоров природного происхождения (иммуномодуляторов, иммунокорректоров) способствует повышению иммунного статуса растений, индуцированию их неспецифической устойчивости к различным болезням, а их совместное использование с протравителями в (нано)чипах в сниженных и резко сниженных нормах в виде защитно-стимулирующих составов, которые, по мнению многих исследователей, являются наиболее рациональным и надежным способом применения биологически активных веществ в случае сильных инфицированных фонов, способствует переориентации хозяйств на производство экологически безопасной продукции и снижение нагрузки на экосистемы, что чрезвычайно актуально для большинства регионов мира [Heng,2010; Гулидова,2010].

Особый интерес представляют данные по дифференцированному влиянию каждого (нано)чипа различного состава на рост, развитие растений, урожайность и его качество для разработки экологически безопасной (нано)технологии предпосевной обработки семян [Ruban,2012]. Показано, что обработка семян перед посевом обеспечивает достоверно (согласно, результатам многофакторного кластерного анализа полевого эксперимента) прибавку урожая (по сравнению с контролем) от 4,6 до 10,9% при обработке экологически чистыми био(нано)чипами, сформированными из четырех производных полисахаридов в различных соотношениях и концентрациях; от 7,3 до 14,7% - при обработке экологически безопасными (нано)чипами, состоящими из производных природного минерала, четырех производных полисахаридов, инсекто-фунгицидов в различных соотношениях и концентрациях со сниженными или резко сниженными нормами расхода. Внедрение этой (нано)технологии в АПК будет способствовать реализации концепции экологизации сельскохозяйственного производства России.

#### Литература

Беляк, В.Б. Биологизация сельскохозяйственного производства. Теория и практика. –Пенза.2008.-320 с.

Воропаева Н.Л. Наночастицы и наноструктуры в водорастворимых полимерных смесях на основе олиго- и полисахаридов. // «Сорбенты как фактор качества жизни и

здоровья. Сорбенты для улучшения качества воздуха, воды, почвы и растений». - Белгород: Белгород - 2012. с.47-54.

Гулидова В.А. Инфицированные семена сельскохозяйственных культур и их защита. Елец.2010. - 281с.

Захаренко В.А. Нанофитосанитария – научное направление, объединяющее нанотехнологию и современную защиту растений. Часть 1.Общая концепция //Агрехимия.- 2011. . – N 3. – с. 3 - 16.

Лялин, А. М. От разработки нанотехнологий к рынку нанопродуктов [Текст] / А. М. Лялин, В. Я. Афанасьев, Г. Л. Азоев. // Национальные проекты. – 2009. – N 4. – С. 44.

Семенас, С. Органическое сельское хозяйство. Обзор. [Текст] / С.Семенас, Д. Синицкий. – Минск. – 2009. -58 с.

Федоренко В. Ф. Научные разработки по использованию нанотехнологий в АПК: каталог/ МСХ РФ. [Текст] / В. Ф. Федоренко и др. – Москва :Росинформагротех, 2008. – 152 с.

Heng Yina, Xiaoming Zhao, Yuguang Du. Oligochitosan: A plant diseases vaccine—A review. / Heng Yina, Xiaoming Zhao, Yuguang Du. Carbohydrate Polymers. -2010. –V.82. - Issue 1, 2. – p.1-8.

Ruban I. N., Voropaeva N. L, Figovsky O.L. et.al. Biologically active multifunctional nanochips and method application thereof for production of high-quality seed. //Patent USA 2459518. - 2012.

## ВАКУОЛЬ РАСТЕНИЙ КАК СИГНАЛЬНЫЙ КОМПАРТМЕНТ

О.В. Рыкун, Л.А. Ломоватская, А.С. Романенко

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, titanic87@list.ru

В последние годы методами биоинформатики создаются схемы организованных в сеть сигнальных путей, дифференцирующих входящие сигналы для индукции экспрессии определенных генов [Klamt, Kamp, 2011; Ballerstein et al., 2012], но отсутствие биохимических данных по исследуемым системам пока не позволяет создать полноценную модель. При этом остаётся актуальным изучение молекулярных механизмов, обеспечивающих восприятие и трансдукцию внутриклеточных сигналов, генерируемых биотическими и абиотическими факторами, в том числе на различных этапах покоя соответствующих органов растений. В рамках этой проблемы возникает вопрос о возможном участии внутриклеточных структур в трансдукции сигналов, в частности, вакуолей растительных клеток. В этой связи представлялось необходимым, во-первых, выявить в вакуолях растений присутствие таких важных компонентов аденилатциклазной сигнальной системы (АСС) как аденилатциклазы (АЦ) и цАМФ. Во-вторых, изучить влияние вторичных мессенджеров: ионов кальция кальциевой сигнальной системы и пероксида водорода НАДФН-оксидазной сигнальной системы на активность АЦ при биотическом стрессе (инфицирование корнеплодов *Botritis cinerea* L.) на различных этапах покоя корнеплода.

Выделение вакуолей проводили из клеток паренхимы корнеплодов столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.) модифицированным методом [Саляев и др., 1981]. В градиенте плотности сахарозы получали две фракции вакуолей: “сахарные” и “солевые”, а также фракцию тонопласта для изучения свойств тонопластной формы АЦ (тАЦ). Активность растворимой формы АЦ (рАЦ) определяли в вакуолярном соке.

Результаты показали, что в вакуолях клеток столовой свеклы присутствуют ключе-

вые компоненты аденилатциклазной сигнальной системы: две формы аденилатциклаз – тонопластная (тАЦ), растворимая (рАЦ), а также продукт их реакции - цАМФ, выполняющий роль вторичного мессенджера (Рис. 1, 2). Соотношение уровней цАМФ в вакуолях двух типов - «солевых» и «сахарных» и во вневакуолярном пространстве значительно отличалось в различные периоды покоя: в начале покоя уровень этой молекулы во вневакуолярном пространстве преобладал над внутривакуолярным, тогда как в глубоком покое основной пул цАМФ был сосредоточен в вакуолях (Рис. 1). На всех этапах покоя более высокая концентрация цАМФ, активности рАЦ и тАЦ наблюдались в «солевых» вакуолях (Рис. 1, 2). В глубоком покое, по сравнению с начальным периодом,

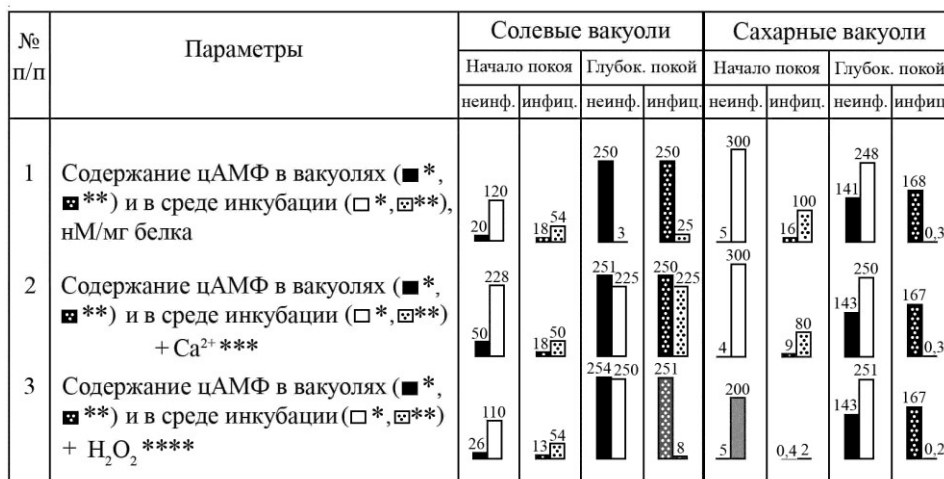


Рис. 1. Влияние Ca<sup>2+</sup> и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> на содержание цАМФ в вакуолях и среде инкубации. \* - неинфицированные ткани; \*\* - инфицированные ткани; \*\*\* - 500 нМ; \*\*\*\* - 700 нМ (наиболее эффективные концентрации).

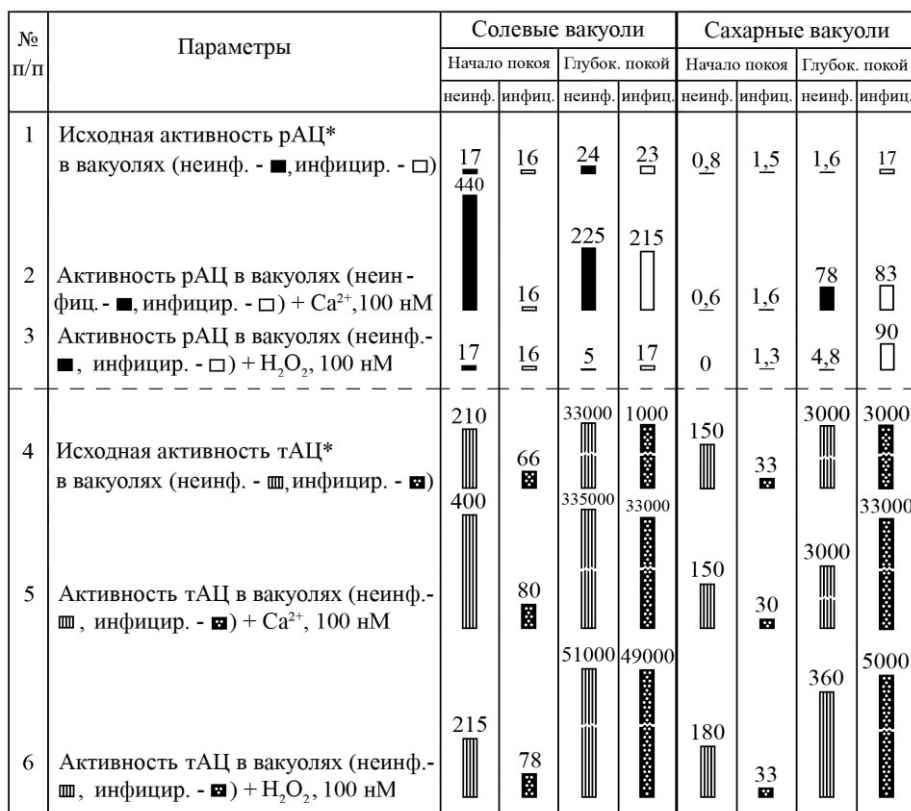


Рис. 2. Активности вакуолярной рАЦ и тАЦ в ответ на вторичные мессенджеры (Ca<sup>2+</sup> и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) и биотический стрессор. \* - нмоль цАМФ/мг белка в мин.

активность тАЦ обоих типов вакуолей возрастала. Ионы кальция оказывали более сильный эффект на активность обеих форм ферментов, чем пероксид водорода. Инфицирование грибом *Botritis cinerea* модулировало активность аденилатциклазной сигнальной системы вакуолей: в начальный период покоя ингибировало тАЦ и почти не влияло на рАЦ в обоих типах вакуолей, а при глубоком покое подавляло тАЦ в «солевых» и стимулировало активность рАЦ в «сахарных» вакуолях. При инфицировании степень активации тАЦ и рАЦ экзогенными ионами кальция и пероксидом водорода существенно снижалась на обеих фазах покоя, за исключением повышения активности обеих форм АЦ в «сахарных» вакуолях при глубоком покое (Рис. 2).

Таким образом, вакуоль растительных клеток может выполнять сигнальные функции, индуцируя внутриклеточные сигналы с помощью компонентов аденилатциклазного сигнального пути. Активность этой сигнальной системы вакуолей тесно связана с физиологическим состоянием корнеплода. Выявление различных эффектов от ионов кальция и пероксида водорода на активность компонентов аденилатциклазной сигнальной системы свидетельствует о перекрестном влиянии сигнальных путей на уровне органелл. Это вносит вклад в развитие теории внутриклеточной трансдукции сигналов у растений и участия вакуолей в этом процессе.

#### Литература

Саляев Р.К., Кузеванов В.Я., Хаптагаев С.М. Выделение и очистка вакуолей и вакуолярных мембран из клеток растений. // Физиология растений. – 1981. – Т.28 N.6. – С.1295–1305.

Ballerstein K., von Kamp S., Klamt U.–U. Haus. Minimal cut sets in a metabolic network are elementary modes in a dual network. // Bioinformatics, 2012. – V.28. – N.3. – P. 381–387.

Klamt S., von Kamp A. An application programming interface for CellNetAnalyzer. // Biosystems, 2011. – V. 105. N.2. – P.162–168.

### **ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PINUS SYLVESTRIS* L.) НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ТЕХНОГЕННЫХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ В УСЛОВИЯХ ВОРОНЕЖА**

Л.А. Рязанцева, П.М. Евлаков

ФГУП «НИИЛГиС», Воронеж, [ilgis@lesgen.vrn.ru](mailto:ilgis@lesgen.vrn.ru)

На территории Воронежской области основными факторами, формирующими качество воздушного бассейна, являются выбросы промышленных предприятий, теплоэнергетики и автотранспорта. По данным ФГБУ «Воронежский ЦГМС» на 01.01.2012 г., объем выбросов промпредприятий, теплоэнергетики и автотранспорта в атмосферу составил 433,5 тыс.тонн. Превышение максимальной концентрации (ПДК) в юго-восточной части города составили: по пыли (2,8), SO<sub>2</sub> и NO<sub>2</sub> (1,8), CO (2,0), формальдегида (1,0 – 3,0). Наибольшее загрязнение наблюдается в юго-восточной части г. Воронежа, где сосредоточены предприятия ТЭЦ-1, ОАО «Синтезкаучук», ОАО «Воронежшина» и др.

Результаты многолетних исследований (1991-2006 гг.) учеными ФГУП «НИИЛГиС» на семи ППП, заложенных по ГОСТу в монокультурах *Pinus sylvestris* L. дают четкое представление о необходимости проведения их инвентаризации, ввиду угрозы их исчезновения. Подтверждением являются работы [Рязанцева и др., 1991, 1996, 1998-2002; Маликов и др., 2005]. Насаждения сосны с утраченной устойчивостью отмечены



у сосны в наиболее загрязнённой левобережной части города в 0,5 км от ОАО «Воронежшина», на других участках – с нарушенной устойчивостью.

На этапе исследований в целях своевременного выявления и предотвращения последующего снижения их жизнеспособности для изучения были взяты семеносящие средневозрастные деревья, не имеющие видимых повреждений на стадии обратимых функциональных изменений.

Широко используемые в настоящее время санитарно-гигиенические нормативы в большинстве случаев завышены и не обеспечивают сохранность монокультур сосны. Для этого предпочтительны более чувствительные (на 2-5 порядков) методы физиолого-биохимической диагностики (рост, фотосинтез, дыхание, ферментативная активность) – табл. 1 и 2, рис.

**Таблица 1**

**Индекс фотосинтетической активности (ИФА) и его составляющих (мг CO<sub>2</sub> / г · ч) у 2-летней хвои модельных деревьев разной категории состояния**

№ ППП	Категория состояния деревьев	ИФА	t	Фист	t	Дт+Дс	t
1С	здоровые	3,6±0,06	2,9*	7,8±0,67	2,9*	1,06±0,09	2,9*
	ослабленные	2,6±0,03		5,2±0,06		0,97±0,05	
2С	здоровые	4,7±0,2	4,0*	7,0±0,48	1,6	1,51±0,19	4,0*
	ослабленные	3,8±0,1		6,1±0,30		1,47±0,32	
6С (контроль)	здоровые	7,9±0,75	5,3*	7,8±0,60	2,3	1,13±0,20	5,3*
	ослабленные	3,0±0,05		-		2,00±0,22	

Примечание: \*различия, достоверные по критерию Стьюдента (t) при P=0,05 контроля. Фист - истинный фотосинтез, Дт – темновое дыхание, Дс – световое дыхание. Обозначения: 1С, 2С – 0,5 и 1,5 км от ОАО «Воронежшина», 6С – кордон «Кожевное».

Данные табл. 1 показывают, что между деревьями сосны «ослабленными» - по лесопатологической оценке и без «видимых» признаков поражения – установлены статистически достоверные различия в фотосинтетической и дыхательной активности хвои, что привело к уменьшению длины боковых побегов первого порядка.

Приведенные в таблице 2 данные чётко свидетельствуют о снижении в 1,5-2 раза показателей их радиального прироста древесины в погодичной динамике в техногенной среде обитания. Следовательно этот показатель может быть использован при выявлении наличия стрессового состояния у деревьев без видимых признаков поражения.

**Таблица 2**

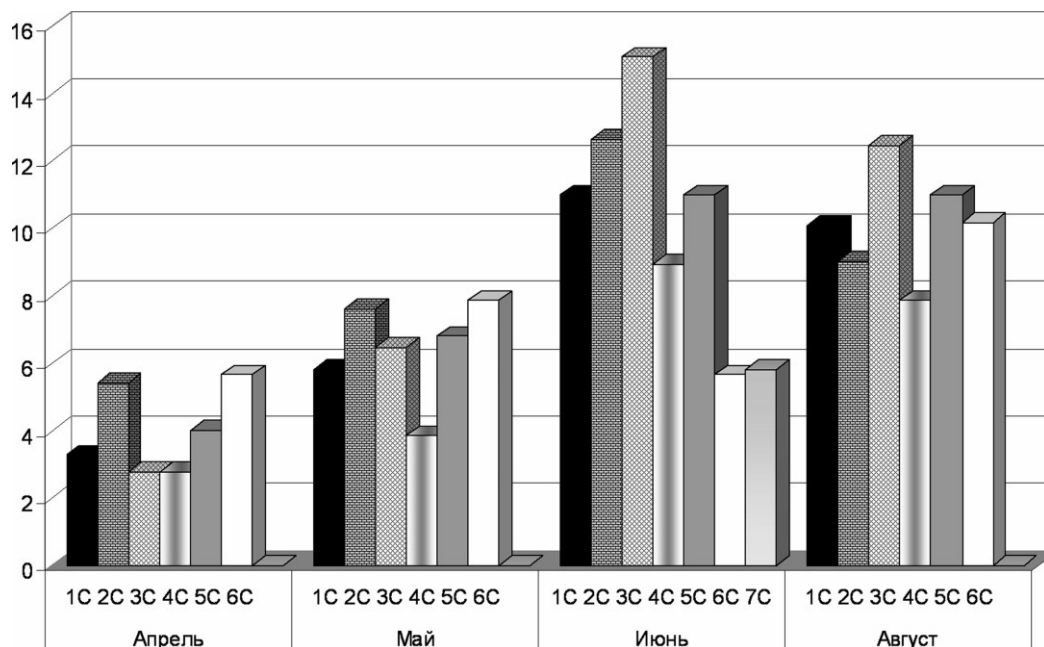
**Динамика радиального прироста древесины сосны обыкновенной в возрасте 35-50 лет в экстремальных природных условиях (летняя засуха) и техногенной среде**

№ ППП	Общий радиальный прирост древесины, мм			
	5 лет	10 лет	20 лет	40 лет
1С	0,68 ± 0,03*	0,82 ± 0,03*	1,07 ± 0,08*	1,65 ± 0,05*
2С	0,76 ± 0,03*	0,89 ± 0,02*	1,04 ± 0,05*	1,57 ± 0,05*
6С (контроль)	1,23 ± 0,04	2,0 ± 0,06	2,3 ± 0,01	2,78 ± 0,08
Прирост поздней древесины, мм				
1С	0,27 ± 0,01*	0,39 ± 0,02*	0,50 ± 0,02*	0,70 ± 0,02*
2С	0,28 ± 0,03*	0,42 ± 0,03*	0,53 ± 0,02*	0,66 ± 0,03*
6С (контроль)	0,40 ± 0,01	1,00 ± 0,03	1,10 ± 0,04	1,15 ± 0,03

Примечание: \* различия, достоверные по критерию Стьюдента (t) при P = 0,05; 1С и 2С – 0,5 и 1,5 км от ОАО «Воронежшина»; 6С – контроль, загородная зона, кордон «Кожевное» - 5 км.

Как и в случае с радиальным приростом древесины, изменения ферментативной активности («эффект пероксидазы») более значительны под влиянием промышленных выбросов в 0,5 км от ОАО «Воронежшина» (рисунок).

Оценка существующей ситуации свидетельствует о значительном ослаблении их жизнеспособности под действием химических выбросов (CO, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> и формальдегида) и сосна непригодна для размещения в зонах повышенного техногенного воздействия (в радиусе 1,5 км от предприятия ОАО «Воронежшина»).



**Рис. Сезонная динамика активности фермента пероксидаза в 2-летней хвое сосны обыкновенной.**

**Условные обозначения: 1С, 2С и 6 С такие же, как в таблице 2; 3С – ЭВП «Процессор»; 4С – ВЗАК; 5С – АО «Синтезкаучук»; 7С – Воронежский заповедник.**

Изучение тестовых физиолого-биохимических показателей у сосны при функциональной диагностике скрытых повреждений необходимо для понимания особенностей ферментативного баланса и репарационных механизмов в период гомеостаза и более быстрого восстановления повреждений. Этот фермент является наиболее активным и принимает участие в энергетическом обмене клетки и формировании годичных колец древесины.

Данная работа представляет научную и практическую значимость, так как позволяет вскрыть корреляционные связи CO<sub>2</sub> - газообмена, линейного и радиального прироста древесины и побегов, лесопатологического состояния сосны в условиях загрязнения среды.

#### Литература

Рязанцева Л.А., Федченко А.И. Особенности регуляции фотосинтеза, дыхания сосны обыкновенной и видов лиственницы в условиях стресса//Экологическая физиология хвойных: Матер. межд. симп; Абакан. 1991. – С.123-124.

Рязанцева Л.А., Спесивцева В.И. Структурно-функциональные изменения насаждений сосны обыкновенной без видимых признаков поражения при техногенном воздействии//Эколого-физиологические аспекты ксилогенеза хвойных: Материалы межд. конф., Красноярск: ИЛ, 1996. – С.102-106, 164-165.

Рязанцева Л.А. Басова С.В., Спесивцева В.И., Федченко А.И. Оценка

физиологического и лесопатологического состояния насаждений сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в условиях промышленных эмиссий// Экология Центрального Черноземья РФ: Сб. научн. тр., Липецк, 1998. – С.38-46.

Рязанцева Л.А., Басова С.В., Спесивцева В.И., Федченко А.И. Функциональные нарушения насаждений сосны обыкновенной под воздействием техногенных выбросов промпредприятий Воронежа// Лесоведение, 1999. - №2. – С. 22-27.

Рязанцева Л.А., Спесивцева В.И. Эколого-физиологические аспекты мониторинга и селекции древесных растений на устойчивость в техногенно-загрязненных условиях// Лесная генетика и селекция: Сб. научн. тр., Воронеж, НИИЛГиС, 2002. - С. 162-173.

Рекомендации по повышению устойчивости насаждений сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в зонах аэротехногенного воздействия г. Воронежа и области. (Разработчики: Маликов В.С. и др.), ФГУП «НИИЛГиС», 2005. – 31 С.

## ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ДЕСАТУРАЗ *A. THALIANA* COL-0 ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИПОТЕРМИИ

А.А. Селиванов, И.Е. Мошков

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, aselivanov123@yandex.ru

Наряду с засухой, засолением и повышенной температурой, одним из основных абиотических факторов окружающей среды, оказывающих разрушительное воздействие на растительный организм, является гипотермия. Поскольку воздействие пониженных температур оказывает серьезное влияние на продуктивность сельскохозяйственных культур не только в средних широтах, но даже в субтропических и тропических районах, изучение физиологических механизмов, с помощью которых растения могут переносить охлаждение, не теряет своей актуальности.

Пониженная температура вызывает серьезные изменения в жизнедеятельности растительной клетки, приводящие сначала к её повреждению, а затем, возможно, и к гибели. Как для теплолюбивых, так и для холодостойких видов растений при действии низких положительных температур можно выделить два, возможно, основных повреждающих фактора: нарушение нативного состояния липидных мембран и развитие окислительного стресса, вызванного интенсивным образованием активных форм кислорода (АФК).

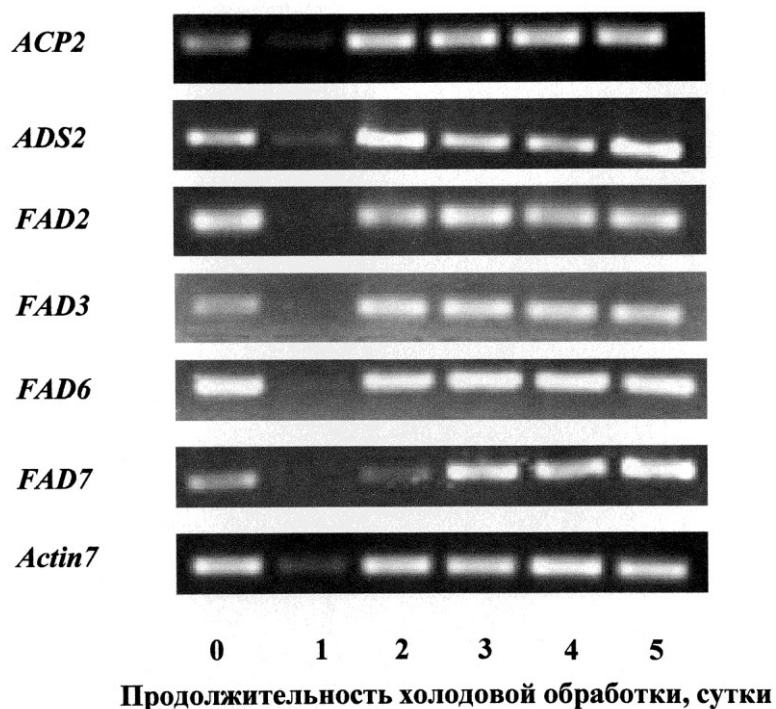
Степень изменения жидкостных свойств мембран в зависимости от температурных колебаний обусловлена наличием моно-, ди- и полиненасыщенных жирных кислот в составе липидов мембран. За образование двойных связей в молекулах жирных кислот, входящих в состав липидов мембран, ответственны ферменты десатуразы. Целью нашей работы являлось изучение экспрессии генов десатураз и оценка уровня окислительного стресса у растений при длительном воздействии низких положительных температур.

Объект исследования – *Arabidopsis thaliana* (L.) экотипа Col-0 – выращивали в течение 7-8 недель до фазы сформированной розетки при 22°C и 8-часовом фотопериоде, при котором растения даже в этом возрасте не переходят в фазу цветения, поскольку арабидопсис является факультативно длиннодневным растением. Растения подвергали 5-суточному воздействию пониженной температуры 2°C с сохранением фотопериода. Указанные условия были подобраны на основании данных формирования устойчивости к отрицательным температурам. В результате холодной обработки (закаливания) при этом режиме повышалась устойчивость растений к действию отрицательных темпера-

тур: по результатам выживания растений после промораживания в течение 24 ч – с –4°С до –7-8°С, а по выходу электролитов (50% от максимального) – с –3,6°С до –6,4°С.

Для исследования изменений в экспрессии генов десатураз образцы отбирали во время периода закаливания посуточно. В геноме арабидопсиса идентифицируют 8 генов различных десатураз жирных кислот липидов; кроме того, имеется ряд генов, кодирующих белки с десатуразной активностью. На данном этапе работы мы исследовали экспрессию следующих генов десатураз жирных кислот: *ACP2*, *ADS2*, *FAD2*, *FAD3*, *FAD6*, *FAD7*. В качестве референсного гена использовали ген актина *ACT7*. РНК из листьев растений выделяли, используя Spectrum Plant Total RNA Kit согласно инструкции производителя, затем проводили реакцию обратной транскрипции. Полученную кДНК использовали для проведения ПЦР по стандартной методике. Продукты реакции визуализировали путем электрофореза в 1,5% агарозном геле; данные анализировали при помощи программы 1D-Scan. Уровень интенсивности окислительного стресса оценивали путем измерения скорости генерации супероксид-анион радикала, основанного на его способности к цветной реакции с адреналином.

Проведенные исследования показывают, что при длительном воздействии пониженной температуры в целом наблюдается повышение уровня экспрессии исследованных генов к концу экспозиции (Рис. 1). В то же время, результаты, полученные при из

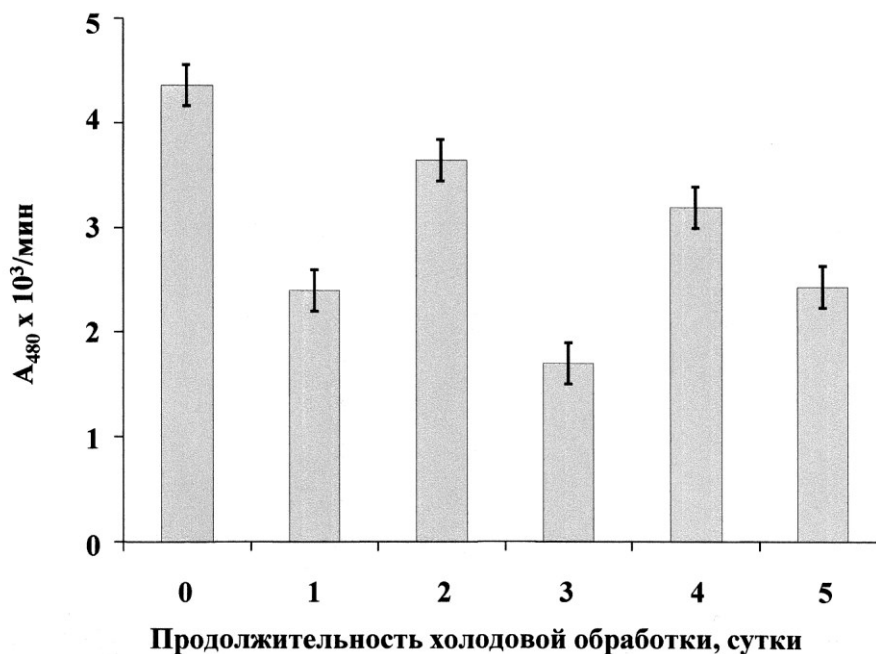


**Рис. 1. Изменение экспрессии генов десатураз жирных кислот при 2°С в зависимости от продолжительности обработки.**

мерении скорости генерации супероксид-аниона (Рис. 2) свидетельствуют о том, что при температуре 2°С у растений *A. thaliana* не отмечается выраженного окислительного стресса; более того, заметна явная тенденция к снижению скорости генерации супероксид-аниона к пятому дню холодового воздействия.

Известно, что супероксид-анион – первичное звено в образовании других АФК – образуется из-за рассогласования окислительно-восстановительных процессов, проходящих в клеточных мембранах. Полученные данные позволяют предположить наличие

взаимосвязи между состоянием клеточных мембран и интенсивностью генерации АФК; возможно, что поддержание при холодовом стрессе нативной структуры мембран за счет увеличения содержания полиненасыщенных жирных кислот вследствие повышения активности десатураз играет определенную роль в защите клетки от повреждения АФК.



**Рис. 2.** изменение скорости генерации супероксид-анион радикала при 2°C в зависимости от продолжительности обработки.

Дальнейшее направление работы включает в себя детальное исследование динамики экспрессии генов десатураз жирных кислот в первые двое суток воздействия пониженной температуры, а также влияние светового режима на её особенности.

*Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 11-04-01509а).*

### **АКТИВНОСТЬ КЛЮЧЕВЫХ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ, ИНДУЦИРОВАННОМ ГИПОТЕРМИЕЙ, У РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSUM* L.)**

М.С. Синькевич

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, sinkevich\_m@mail.ru

Согласно существующим в настоящее время представлениям, одним из важнейших факторов повреждения теплолюбивых и холодостойких растений является окислительный стресс, вызванный усилением образования активных форм кислорода (АФК). Кроме образования АФК на итоговый уровень повреждений оказывает влияние эффективность антиоксидантной системы, состоящей из низкомолекулярных антиоксидантов и антиоксидантных ферментов, среди которых особо выделяют такие семейства как супероксид дисмутаза (СОД, ЕС 1.15.1.1), каталазы (ЕС 1.11.1.6.), пероксидазы (ЕС 1.11.1.7). В отличие от теплолюбивых, холодостойкие растения выживают даже при длительном действии околонулевых температур [Синькевич и др., 2011], что предпола-

гает большую эффективность антиоксидантной системы.

Поскольку все параметры окислительного стресса и антиоксидантной системы довольно сложно зависят друг от друга, изучение активности одного из ферментов могло не позволить сделать адекватные выводы, поэтому в нашей работе были проанализированы одновременно несколько показателей. Целью данной работы было оценить эффективность работы антиоксидантной системы на основании активностей ее ключевых ферментов у картофеля, как типичного представителя холодостойких растений.

В представленной работе были использованы растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Дезире, размножаемые черенкованием и выращиваемые в камере фитотрона ИФР РАН на нейтральном минеральном субстрате (перлит) с дополнительной регулярной подкормкой удобрением «Кемира-Люкс» при температуре 22°C и 16-часовом фотопериоде при освещенности 100 мкмоль квантов/(м<sup>2</sup>·с).

Для охлаждения растений использовали температуру 5°C в течение 6 сут в камере «КВW-240» (Binder GmbH, Германия) с освещенностью 50 моль квантов/(м<sup>2</sup>·с). Подбор сочетания температуры, продолжительности ее воздействия и светового режима были проведены ранее. Для контроля также проводили отбор проб в оптимальных условиях выращивания (22°C).

Для выделения белка, навеску листьев массой 500 мг гомогенизировали в жидком азоте, помещали в пробирку и затем приливали два объема среды выделения содержащей 50 мМ Трис-HCl, pH 7,6, 3 мМ ЭДТА, 250 мМ сахарозу, 3,6 мМ цистеин, 5 мМ аскорбиновую кислоту, 3 мМ MgCl<sub>2</sub>, 2 мМ ДТТ, 2 мМ ФМСФ. Все операции по выделению белка проводили при +4°C. Образцы центрифугировали в течение 20 мин при 16000 g, супернатант очищали на колонках PD-10 midiTrap G-25. Полученный элюат использовали для определения общей активности соответствующих ферментов.

Активности антиоксидантных ферментов определяли по методам, описанным в работе [Kumar, Knowles, 1993].

Скорость образования АФК, преимущественно супероксидного аниона ( $O_2^-$ ), измеряли в соответствии с методом [Часов и др., 2002].

Как известно, изменение внешних условий сказывается на множестве окислительно-восстановительных реакций, а также на скорости транспорта электронов в митохондриях и хлоропластах растений. Интегральным показателем этих изменений служит скорость образования супероксидного аниона ( $O_2^-$ ), составлявшая 3,8 отн. ед./мин у неохлажденного контроля. В процессе охлаждения при 5°C скорость образования ( $O_2^-$ ) существенно повышалась только на 5-6 сутки, достигая значений 5,8 отн.ед./мин.

Общая активность СОД до охлаждения составляла 104 единицы активности (е.а.), при этом динамика ее активности не совпадала с динамикой скорости генерации супероксидного аниона. Уже после первых суток охлаждения активность СОД достигала 145 е.а., а затем снижалась ниже исходного (контрольного) уровня. Повторное повышение активности СОД наблюдалось вслед за повышением скорости генерации АФК в конце охлаждения, достигая на 6 сут 170 е.а.

Измерение активности ферментов, расщепляющих перекись водорода, образующуюся в результате нейтрализации супероксидного аниона СОД, показало, что активность пероксидаз была на порядок выше активности каталаз (1,6 е.а против 14 и более е.а.), причем превалировал вклад пероксидаз класса III (гваяколовых), активность которых была на два порядка выше активности пероксидаз аскорбата.

Динамика активности каталазы находилась в обратной зависимости от пероксидазной: активность каталазы снижалась, достигая 0,5-0,6 е.а. после вторых суток охлаждения, при этом активность пероксидаз возрастала до 34 е.а. по окончании третьих суток. К концу охлаждения активность каталазы возвращалась на исходный уровень, а

активность пероксидазы снижалась, но оставалась выше исходной.

По-видимому, скорость образования АФК менялась при смене внешних условий не сразу в связи с тем, что холодостойкие растения обладают более широкими возможностями по стабилизации функционально активных мембран хлоропластов и митохондрий, чем теплолюбивые растения. В результате этого, длительное действие 5°C оказывает на растения картофеля стрессовое воздействие только при продолжительном снижении температуры.

В качестве другой особенности холодостойких растений можно выделить способность активировать защитные ферменты (в первую очередь СОД и гваяколовые пероксидазы) не в последствии повышения скорости генерации АФК, а с некоторым опережением, наиболее вероятно вызванным работой сигнальных систем клетки.

*Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 11-04-00719).*

#### Литература

Синькевич М.С., Нарайкина Н.В., Трунова Т.И. Процессы, препятствующие повышению интенсивности перекисного окисления липидов у холодостойких растений при гипотермии. // Физиология растений, 2011, т. 58, №6, с. 875-882.

Часов А.В., Гордон Л.Х., Колесников О.П., Минибаева Ф.В. Пероксидаза клеточной поверхности – генератор супероксид-аниона в корневых клетках пшеницы при раневом стрессе // Цитология. 2002. Т. 44. С. 691-696.

Kumar G.N., Knowles N.R. Changes in Lipid Peroxidation and Lipolytic and Free-Radical Scavenging Enzyme during Aging and Sprouting of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Seed-Tubers. // Plant Physiol. 1993. V. 102. P. 115-124.

### **ВЛИЯНИЕ АССОЦИАТИВНЫХ БАКТЕРИЙ НА НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И РОСТ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ НА ТЕХНОГЕННЫХ ПОЧВАХ**

М.Г. Соколова<sup>1</sup>, Г.А. Белоголова<sup>2</sup>, Г.П. Акимова<sup>1</sup>, О.Б. Вайшля<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, [SokolovaMG@sifibr.irk.ru](mailto:SokolovaMG@sifibr.irk.ru)

<sup>2</sup>Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, Иркутск, [gabel@jgc.irk.ru](mailto:gabel@jgc.irk.ru)

<sup>3</sup>Томский государственный университет, Томск

Изучены особенности влияния ассоциативных ризосферных бактерий *Azotobacter* и *Bacillus*, входящих в состав биопрепаратов азотобактерина, фосфобактерина и кремнебактерина, на рост и развитие ряда агрокультур (салат, редис, овес, горох), в зависимости от произрастания на техногенных почвах разного уровня загрязнения тяжелыми металлами (Co, Ni, Pb, Cd) и As.

Растительно-микробные ассоциации – сложный, уникальный и недостаточно изученный биологический комплекс микро- и макроорганизмов. Все части этой экосистемы «почва-микроорганизмы-растения» тесно взаимосвязаны между собой разнообразными процессами [Кацы, 2007], в частности через обмен различными элементами [Битюцкий, 2010]. Биологическая роль химических элементов – это важный и до конца не решенный вопрос. Отмечается, что в природе нет токсичных и нетоксичных химических элементов, есть токсичные и нетоксичные концентрации [Ильин, Сысо, 2001]. В растительных тканях концентрации микроэлементов небольшие, подчас микроскопические, но они жизненно необходимы и вовлечены в самые разнообразные физиологические и биохимические процессы организма [Битюцкий, 2010]. Однако высокие концен-

трации вредны не только для жизнедеятельности растения, но и опасны в случае использования растений как агропродуктов. Выяснение тонких механизмов формирования и функционирования растительно-микробных биологических систем представляет значительный фундаментальный и практический интерес.

В связи с обостряющейся техногенной ситуацией становится все более актуальной экологизация агропроизводства. Все чаще в мировой практике обсуждается значимость и важная роль ризосферных бактерий, стимулирующих рост растений PGPR (Plant Growth Promoting *Rhizobacteria*) и их перспективность в развитии экологически чистого растениеводства. Отмечается, что различные штаммы ризосферных бактерий могут оказывать различное влияние на поведение тяжелых металлов и элементов питания растений в системе «почва – растение». Некоторые исследователи считают, что ризосферные бактерии способны ограничивать или усиливать аккумуляцию тяжелых металлов растениями [Вайшла и др, 2007; Кацы, 2007].

Ранее нами показано, что исследуемые штаммы бактерий способны мобилизовать кремний и фосфор из такой горной породы как «фосфоритная руда» [Вайшла и др, 2007]. Кроме того, была доказана эффективность использования этих штаммов как компонентов системы биологического земледелия, стимулирующих рост и продуктивность растений [Соколова и др., 2009; 2012].

Исследуемые биопрепараты азотобактерин (*Azotobacter chroococcum*), фосфобактерин (*Bacillus megaterium* var. *Phosphaticum*), кремнебактерин (*Bacillus mucilaginosus*) – это жидкие концентраты чистых культур почвенных бактерий 3-х видов. Биопрепараты являются экологически безопасными, нетоксичными для человека и животных стимуляторами роста растений. Биопрепараты разработаны в Томском госуниверситете [Вайшла и др, 2007] и предложены для апробации и исследования в агроклиматических условиях Иркутской области на базе Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН.

В данном эксперименте растения выращивали в условиях фитотрона на почвах, отобранных из техногенной зоны г. Свирска (бывшего Ангарского металлургического завода (АМЗ)). Определение химического состава проб растений выполнялось методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой ИСП-МС. Для определения массовой доли As, Pb, Cd, Co, Ni в пробах почв использовали метод атомной абсорбции. Ошибка определения не превышала 5-20 %. Рассчитан коэффициент биологического накопления элементов, как отношение содержания в растении к его концентрации в почве.

Показано, что содержание тяжелых металлов на сильно загрязненной почве (10 м от источника загрязнения АМЗ) в десятки, а в случае Pb и As, в сотни раз превышала их уровень на фоновых почвах. Обработка ризосферными бактериями почвы приводила к значительному снижению содержания в ней этой группы элементов металлов [Белоголова и др., 2012].

Все растения, выращенные на разных по уровню загрязнения почвах, имели разную динамику роста и отличались по морфологическим параметрам и фазам развития. Всходы растений на сильно загрязненном участке появились позже, чем на более чистых участках, а всходов редиса не было даже через 20 дней после посева (табл.1). Опытные растения редиса, обработанные биопрепаратами (БП), выглядели крупнее контрольных и менее отличались от растений фонового участка.

Через 35 дней после посева растения салата, также как и редиса, с загрязненного участка имели в 2-3 раза меньшую высоту стебля и ширину листьев. Растения салата на самом загрязненном участке (№ 4) были мельче в 2 раза, по сравнению с фоновым, а редиса - в 5 раз. Бактеризация увеличила размер растений на 10-20% во всех вариантах, кроме салата на самой загрязненной почве.



**Таблица 1**

**Параметры ширины настоящего листа, см (через 20 дней после посева)**

Растения	Фон (1)		500 м (2)		100 м (3)		10 м (4)	
	Конт-роль	Опыт БП	Конт-роль	Опыт БП	Конт-роль	Опыт БП	Конт-роль	Опыт БП
Салат	1,0±0,1	1,0± 0,1	0,7±0,1	0,7±0,1	0,5±0,1	0,7±0,1	всходы	всходы
Редис	1,5±0,2	1,6± 0,2	1,0±0,1	1,3±0,2	0,3±0,1	0,5±0,1	нет	нет

Примечание: опыт - обработка почвы биопрепаратами (БП)

Выращенные на техногенной почве растения больше накапливали тяжелых металлов, чем, выращенные на фоновом участке. При этом бактериализация почвы способствовала снижению их содержания в растениях в несколько раз. На чистых фоновых почвах обработка биопрепаратами приводила к некоторому возрастанию содержания тяжелых металлов в растениях, но не превышающему ПДК.

Установлена высокая подвижность в системе «почва – растение» для Cd. As занимал промежуточное положение, а минимальной мобильностью и биодоступностью в этой системе обладали Pb, Ni и Co. Коэффициенты биологического накопления показали, что ризосферные бактерии значительно снижали аккумуляцию элементов - токсикантов в растениях на техногенных почвах (табл.2). На фоновых почвах наблюдали обратный процесс.

**Таблица 2**

**Распределение коэффициентов биологического накопления (Кб) в растениях, выращенных на почвах с различным уровнем загрязнения**

	Фоновый участок (1)					Участок 10 м от отвалов (4)				
	As	Pb	Cd	Ni	Co	As	Pb	Cd	Ni	Co
Салат										
Контроль	0,0150	0,0083	1,400	0,0068	0,0037	0,0330	<b>0,041</b>	<b>1,820</b>	<b>0,079</b>	<b>0,092</b>
Опыт	<b>0,0250</b>	<b>0,0144</b>	1,270	<b>0,0106</b>	<b>0,0063</b>	<b>0,0410</b>	0,030	0,634	0,034	0,038
Редис										
Контроль	0,0057	0,0122	1,320	0,0046	0,0039	<b>0,0257</b>	<b>0,020</b>	<b>0,590</b>	0,036	<b>0,042</b>
Опыт	<b>0,0277</b>	<b>0,0137</b>	<b>1,700</b>	<b>0,0069</b>	<b>0,0059</b>	0,0029	0,001	0,053	0,034	0,017

Примечание: Жирным шрифтом выделено повышенное содержание при сопоставлении контрольного и опытного экспериментов.

Исследования позволили установить некоторые особенности влияния ассоциативных ризосферных бактерий *Azotobacter* и *Bacillus* на рост ряда агрокультур, миграцию тяжелых металлов и мышьяка в системе «почва – растение» и отличия направленности течения этих процессов в зависимости от степени загрязненности почв. Показано, что ризосферные бактерии влияют на морфогенез растений, повышают ростовые процессы, увеличивая массу растений и фазу их роста, а также способствуют снижению концентрации тяжелых металлов и мышьяка в агрокультурах на техногенных почвах, что может быть использовано, как биотехнологический прием в производстве растительной продукции высокого качества в условиях техногенеза.

*Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ №12-05-00-257.*

## Литература

Белоголова Г.А., Гордеева О.Н., Соколова М.Г. Миграция и биодоступность тяжелых металлов и мышьяка под влиянием ризосферных бактерий в системе «почва-растение». / Матер. Всероссийской научной конференции «Геохимия ландшафтов и география почв». Москва: Географический факультет МГУ. 2012. С. 55-57.

Битютский Н.П. Микроэлементы высших растений. СПб.: Спб. ун-т. 2011. 368 с.

Вайшла О.Б., Ведерникова А.А., Бондаренко А.П. Микробиологические аспекты гипергенеза. Томск: ТМЛ-Пресс, 2007. 288 с.

Ильин В.Б., Сысо А.И. Микроэлементы и тяжелые металлы в почвах и растениях Новосибирской области. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2001. 229 с.

Кацы Е.И. Молекулярная генетика ассоциативного взаимодействия бактерий и растений. М.: Наука, 2007. 86 с.

Соколова М.Г., Акимова Г.П., Вайшла О.Б., Верхотуров В.В. Биобезопасная бактериальная технология для улучшения качества растительного сырья // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. ИрГТУ. 2012. № 2(3). С.100-104.

Соколова М.Г., Акимова Г.П., Хуснидинов Ш.К. Изучение эффективности ассоциативных бактерий биопрепаратов на различных овощных культурах // Агрехимия, 2009. № 7. С. 54-59.

## **РОЛЬ ПИГМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ ВЕЧНОЗЕЛЕНОГО КУСТАРНИЧКА *EPHEDRA MONOSPERMA* В АДАПТАЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА К НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ**

В.Е. Софронова<sup>1</sup>, В.А. Чепалов<sup>1</sup>, О.В. Дымова<sup>2</sup>, Т.К. Головко<sup>2</sup>

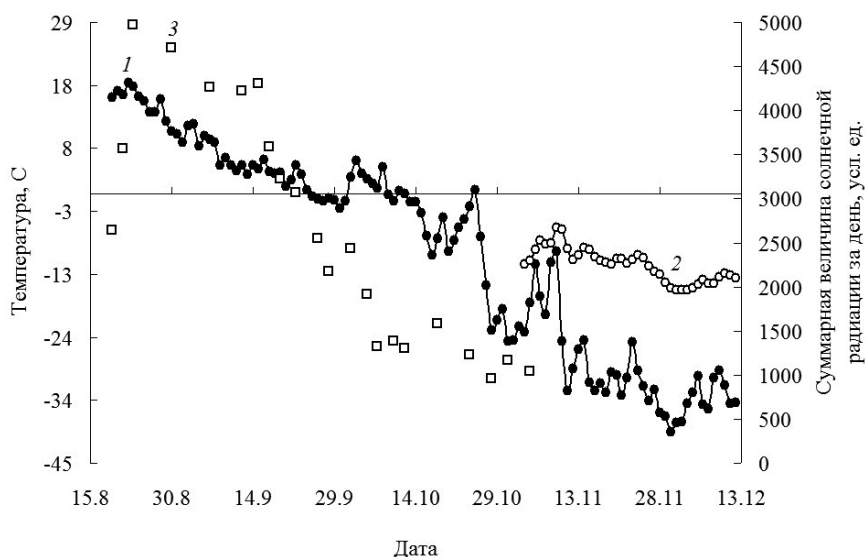
<sup>1</sup>Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, vse07\_53@mail.ru

<sup>2</sup>Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, dymovao@ib.komisc.ru

Количественное содержание и качественный состав пигментов, изменение их соотношения в ассимилирующих органах – важные и чувствительные показатели физиологического состояния растений. В литературе широко обсуждаются светособирающая, фотозащитная и антиоксидантная функции пигментов, их влияние на физические свойства мембран [Ладыгин, Ширшикова, 2006]. Однако, сведения о пигментной системе растений разных ботанико-географических зон не достаточны и противоречивы [Головко и др., 2007]. В данной работе в естественных условиях проведено изучение адаптивных изменений в пигментном составе растений вечнозеленого кустарничка *Ephedra monosperma* С.А. Меу. Светолюбивое и засухоустойчивое растение, функцию ассимиляции осуществляют многочисленные, сильноветвистые зеленые побеги с редуцированными, чешуйчатыми листьями.

Растения *E. monosperma* произрастали на территории Ботанического сада Института биологических проблем криолитозоны СО РАН, расположенной на второй надпойменной террасе долины р. Лены (62°15' с.ш., 129°37' в.д.). Эксперименты проводили в 2009–2011 гг., не отличающиеся существенно по погодным условиям. Температуру воздуха, поверхностную плотность солнечного суммарного излучения (Вт/м<sup>2</sup>), на опытном участке регистрировали с помощью термографа DS 1922L iButton (“Dallas Semiconductor”, США), сенсора MS-201Fb (“Eiko”, Япония). Суммарную величину солнечной радиации за день находили как сумму измерений сенсора MS-201Fb с интервалом 30 мин (рис. 1). Для определения пигментов использовали ассимилирующие парциальные побеги текущего года. Отбор проб осуществляли в первую половину дня. Пробы фиксировали жидким азотом. Содержание хлорофиллов (Хл) и суммы кароти-

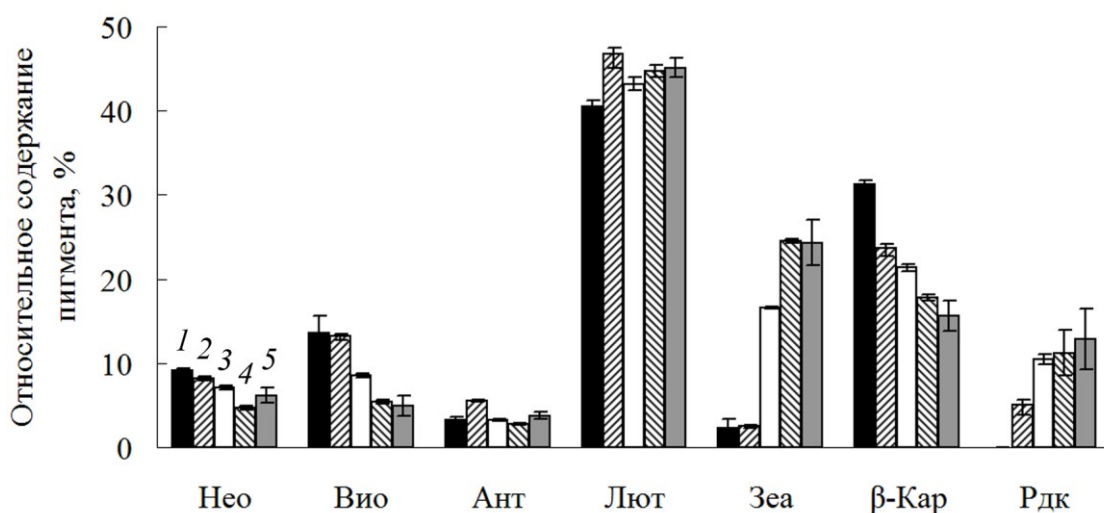
ноидов (Кар) определяли спектрофотометрически в ацетоновых экстрактах. Разделение индивидуальных Кар проводили с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой («KNAUER», Германия) [Gilmore, Yamamoto, 1991]. Количественное содержание родоксантина (Рдк) определяли, после ТСХ ацетоновых экстрактов [Софронова, Семенова, 2010]. Значения  $NPQ_f$  находили путем регистрации индукционных кривых флуоресценции Хл, зарегистрированных с помощью флуориметра



**Рис.1. Изменение температуры и освещенности в период проведения исследований в 2011 г. 1 – среднесуточная температура воздуха, 2 – температура снежного покрова на глубине 15 см, 3 – суммарная величина солнечной радиации за день (приведены усредненные данные за 5 дней – четыре предшествующих дня и день взятия проб).**

РАМ-2500 (Walz, Германия). Для выявления локализации Рдк поперечные срезы побегов толщиной 30-35 мкм без фиксации и окрашивания просматривали через световой микроскоп («БИОМЕД-4», Россия) при увеличении в 40 и 400. Определение биохимических показателей проводили в 3-5 биологических и 2 аналитических повторностях. Полученные данные обрабатывали методом однофакторного дисперсионного анализа с уровнем значимости 0.05 в среде Microsoft Excell 2003. На рисунке 2 представлены средние арифметические величины показателей и их стандартные отклонения.

В период активной вегетации (май-август) содержание Хл варьировало в пределах 2.7–3.1 мг/г сухой массы. Отношение Хл а/Хл б, оставалось постоянным во все сезоны года. В период активной вегетации на 100 молей Хл приходилось в среднем 65 молей ксантофиллов (Ксант), а в осенне-зимний период – на 25–30% больше. Уменьшение фонда Хл происходило с начала сентября до конца первой декады октября. В зимний период концентрация Хл в биомассе побегов была на 30–33% ниже, чем летом. Содержание Кар варьировало в узких пределах 0.6–0.7 мг/г сухой массы. В осенне-зимний период их содержание возрастало незначительно, однако доля Кар в общем фонде пигментов увеличивалась существенно. Об этом свидетельствует снижение соотношения Хл/Кар от 4.8 до 2.9. Появление Рдк в побегах эфедры было отмечено в начале осени. Максимальный уровень его концентрации достигался к концу сентября – началу октября (рис.2). В течение всего зимнего периода содержание Рдк поддерживалось на стабильном уровне (до 12-13% от общего фонда Кар). Скопления Рдк обнаружены в 2-3 слоях периферийных клеток паренхимы первичной коры на солнечной стороне побегов. Подавляющая часть фонда желтых пигментов была представлена Ксант. Их доля в



**Рис.2.** Сезонные изменения вклада отдельных каротиноидов в пигментный состав побегов *E. monosperma* (данные 2011 г.). Сроки отбора проб: 1 – 14.7-16.8, 2 – 12.9, 3 – 28.9, 4 – 12.10-24.10, 5 – 21.11-13.12.

осенний период возрастала от 69 до 85% . На  $\beta$ -Кар летом приходилось около 30%, а зимой вдвое меньше общего фонда Кар. Во все сроки отбора проб наибольшую долю, 40–45%, составлял Лют. Наиболее существенным сезонным изменениям подвергался фонд пигментов виолаксантинового цикла (ВКЦ). Содержание Вио к осени снижалось в 1.5 раза, а Зеа возрастало в 5 раз на фоне стабильного содержания Ант. (4–6%). К концу сентября, когда средняя дневная и ночная температуры снизились до  $2.7 \pm 2.4$  и  $0.4 \pm 2.2^\circ\text{C}$  соответственно, уровень дезоксидации пигментов ВКЦ увеличился с 0.2-0.3 до 0.6-0.7. Максимальные значения этого показателя, 0.8, отмечали уже в середине октября. В период осеннего закаливания содержание Хл в побегах эфедры уменьшалось на 30–33%. Считается, что такое явление имеет адаптивное значение для выживания растений зимующих с зелеными листьями, так как оно позволяет снизить количество поглощенной и неиспользуемой на фотосинтез энергии. Появление и присутствие Рдк, снижение  $\beta$ -Кар, входящего в состав пигмент-белковых комплексов РЦ ФСА, являются показателем упорядоченной обратимой «разборки» ФСА при формировании устойчивости *E. monosperma* к неблагоприятным факторам среды. Увеличение содержания Рдк в растениях коррелирует с появлением значительного числа пластоглобул в хлоропластах, претерпевающих реорганизацию тилакоидной системы [Merzlyak et al., 2005].

Накопление в побегах эфедры Ксант ВКЦ и Рдк (рис. 2) мы связываем, в первую очередь, с их фотозащитной функцией. Эти Кар могут участвовать в поддержании безопасного баланса между количеством поглощенной и использованной в фотохимических процессах энергией солнечного излучения. Возрастание пула Зеа, способного принимать и безызлучательно рассеивать поглощенную энергию еще до передачи ее в РЦ ФСА свидетельствует об усилении активности защитных диссипирующих систем ССК ФСА в процессе закаливания и перезимовки растений. Это происходит на фоне снижения значений  $NPQ_f$  (от 0.70 до 0.25, ФАР 300  $\mu\text{моль}/\text{м}^2 \cdot \text{с}$ , температура  $20-22^\circ\text{C}$ ), связанного с рН- и зеаксантинзависимым нефотохимическим тушением возбужденных состояний Хл, что говорит об усилении участия Зеа в тепловой диссипации по конститутивным механизмам. Отметим, что Зеа, Нео, Лют обладают также антиоксидантными функциями. Родоксантин участвует в долговременной фотоадаптации растений родов *Cryptomeria*, *Taxodium*, *Thuja*, *Aloe* путем экранирования избыточного излучения, достигающего тилакоидов [Merzlyak et al., 2005].

Таким образом, экспериментально показаны существенные изменения пигментного аппарата в побегах вечнозеленого кустарничка *Ephedra monosperma*, обусловленные формированием устойчивости к низкотемпературным воздействиям в осенне-зимне-весенний период. Перестройка пигментной системы носит адаптивный характер и является неотъемлемой составляющей комплексного процесса закаливания растений. Активация энергодиссипирующих и антиоксидантных пигментных систем, накопление фотоэкранирующего кетокаротиноида способствуют повышению устойчивости фотосинтетического аппарата и выживанию растений эфедры односемянной в экстремальных условиях криолитозоны Якутии.

#### Литература

Головки Т.К., Табаленкова Г.Н., Дымова О.В. Пигментный комплекс растений Приполярного Урала // Ботанический журнал, 2007. – Т.92. – №11. – С. 1732-1741.

Ладыгин В.Г., Ширшикова Г.Н. Современные представления о функциональной роли каротиноидов в хлоропластах эукариот // Журн. общей биологии, 2006. – Т. 67. № 3. – С. 163-189.

Софронова В.Е., Семенова В.В. Фотоадаптация *Ephedra monosperma* к холодному климату Центральной Якутии // Перспективы фитобиотехнологии для улучшения качества жизни на Севере: Матер. междунар. конф. – Якутск: Издательско-полиграфический комплекс СВФУ, 2010. – С. 112-116.

Gilmore A.M., Yamamoto H.Y. Resolution of Lutein and Zeaxanthin Using a Non\_Endcapped, Lightly Carbon Loaded C18 High\_Performance Liquid Chromatographic Column // J. Chromatogr., 1991. – V. 35. – P. 67-78.

Merzlyak M., Solovchenko A., Pogosyan S. Optical Properties of Rhodoxanthin Accumulated in *Aloe arborescens* Mill. Leaves under High-Light Stress with Special Reference to its Photoprotective Function // Photochem. Photobiol. Sci., 2005. – V.4. – P. 333-340.

## ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИНДЕКСЫ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ

З.Б. Спанкулова, У.М. Оразбаева, Т.Е. Ли

Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, zere\_sb@mail.ru

### Введение

Засуха характеризуется комплексом неблагоприятных условий, приводящих к глубокому дефициту воды в почве и в растении. Угнетающее действие засухи происходит из-за несоответствия потребностей растения во влаге и поступления ее из почвы. Величина этого несоответствия отражает напряженность засухи [Бучинский, 1976].

Засухоустойчивость – это способность растения в условиях засухи с наименьшим ущербом осуществлять рост, развитие и воспроизведение. Как известно, любой организм представляет собой саморегулирующуюся систему. Изменчивость этой системы, способность адаптироваться к внешним воздействиям – важнейший элемент характеристики общебиологических свойств растительного организма [Жученко, 1994; Красносельская, 1926; Красовская, 1935; Шевелуха, 1992].

Дефицит влаги в растениях действует на такие процессы, как поглощение воды, корневое давление, прорастание семян, устьичные движения, транспирация, фотосинтез, дыхание, ферментативная активность растений, рост и развитие, соотношение минеральных веществ и др.

Изучение коррелятивной связи между физиологическими и биохимическими при-

знаками необходимо для разработки адекватных индексов засухоустойчивости.

### **Материал и методы**

Объектами исследования служили 4 среднеспелых сорта яровой пшеницы: Северянка, Алем и Мирас; в качестве стандарта использован сорт Казахстанская 10. Семенной материал выращивали в оранжерее Института биологии и биотехнологии растений и в условиях полевого стационара Казахского научно-исследовательского института земледелия и растениеводства, пос. Алмалыбак. Были подобраны оптимальные условия температурного, светового режимов, состава почвы, условий влагообеспечения и удобренний: оптимальная интенсивность света  $60-70 \cdot 10^3$  лк, температура  $21^{\circ}\text{C}$ , световой период 17 часов с использованием специальных ламп накаливания, полив до 50% полевой влагоемкости.

Засуху моделировали путем прекращения полива, степень воздействия стрессорного фактора оценивали по содержанию почвенной влаги.

Растения пшеницы подвергали засухе в фазе колошения-трубкования. В этой фазе растения наиболее уязвимы к недостатку влаги в почве. Продолжительность засухи составляла 7 дней. В качестве параметров, характеризующих состояние растений при стрессе засухи, использовали относительное содержание воды (*RWC*) листьев, содержание пролина и активность ферментов-антиоксидантов – пероксидазы (*POD*) и супероксиддисмутазы (*SOD*).

*RWC* определяли в соответствии с Schonfeld [Schonfeld et.al., 1988],

Содержание пролина в образцах определяли по методу Bates [Bates et. al., 1973].

Активность *POD* определяли согласно методу Лебедева [Лебедева и др., 1977].

Активность *SOD* определяли по методу Beauchamp [Beauchamp et. al., 1971].

### **Результаты и обсуждение**

Через 7 дней после прекращения полива в стрессированных растениях пшеницы наблюдалась значительная потеря воды. В условиях почвенной засухи *RWC* в листьях всех линий пшеницы понижалось, причем оно было менее заметным у сортов Алем и Казахстанская 10, что способствовало лучшему поддержанию жизнедеятельности в условиях стресса.

Адаптация растений к засухе сопровождалась аккумуляцией в них пролина после 7 дней водного дефицита. Накопление пролина в растениях, подвергнутых стрессу, очень важно для защиты растений от повреждений, вызванных активными формами кислорода  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{HO}^-$ , продуцируемых в условиях окислительного стресса при засухе, а также для осмотического регулирования в клетках.

По результатам анализа содержания пролина в листьях, как важного индекса осмотического регулирования, наиболее адаптированными к стрессу засухи оказались сорта Алем, Северянка, Мирас ( по убывающей).

Поскольку водный стресс связан с накоплением активных форм кислорода (АФК), то устойчивость к данному стрессору зависит от регуляции системы антиоксидантной защиты, включающей антиоксидантные ферменты. После 7 дней моделированной засухи был отобран материал (листья) для определения активности антиоксидантных ферментов *СОД* и *ПОД* по выше указанным методам

Анализ полученных данных по определению активности фермента *СОД* показал, что в условиях засухи у трех сортов Северянки, Алем и Мирас наблюдается повышение активности, а у стандартного сорта Казахстанская-10 активность понижалась на 17%.

Результаты анализа по определению энзиматической активности *ПОД* показали, что у всех испытанных сортов при засухе в сравнении с поливом наблюдается ее понижение.

### **Выводы**

- В условиях почвенной засухи *RWC* в листьях всех линий пшеницы понижа-

лось, причем оно было менее заметным у сортов Алем и Казахстанская 10.

- По результатам анализа содержания пролина в листьях, как важного индекса осмотического регулирования, наиболее адаптированными к стрессу засухи оказались сорта Алем, Северянка, Мирас ( по убывающей).

- Анализ полученных данных по определению активности фермента *СОД* показал, что в условиях засухи у сортов Северянки, Алем и Мирас наблюдается повышение активности; и что у всех испытанных сортов при засухе в сравнении с поливом наблюдается понижение активности *ПОД*.

#### Литература

Бучинский, И.Е. Засухи и суровые / И.Е. Бучинский. – Л.: Гидрометеиздат, 1976. – 214 с.

Жученко, А.А. Стратегия адаптивной интенсификации сельского хозяйства (концепция) / А.А. Жученко. – Пушкино, 1994. – 148 с.

Красносельская, Т.А. Зависимость быстроты набухания от величины зерна пшеницы / Т.А. Красносельская // Тр. по прикл. бот. – 1926.– Вып. XVI. –№ 4.– С. 7–11.

Красовская, И.В. Предельная влажность почвы для развития узловых корней / И.В. Красовская // Тр. по прикл. бот. – 1935. – Сер. III. – № 8. –С. 15–18.

Шевелуха, В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе/В.С. Шевелуха. – М.: Колос, 1992. – 594 с.

Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies // Plant Soil. 1973. V. 39. P. 205–207.

Beauchamp C., Fridovich J. Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels // Anal. Biochem. -1971.- V. 44. -P. 276-287.

Schonfeld M.A., Johnson B.F., Mornhiweg D.W. Water relations in winter wheat as drought resistance indicator // Crop Sci. – 1988. - Vol.28. - P.526-531.

## ФИТОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ *SALVIA OFFICINALIS* L. К МЕДИ И НИКЕЛЮ

Л.А. Стеценко

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, larstet@mail.ru

Одним из опасных антропогенных воздействий на почвы является загрязнение их тяжелыми металлами (ТМ). Изучение влияния различных концентраций  $Ni^{2+}$  и  $Cu^{2+}$  на растения представляет интерес, поскольку эти металлы являются эссенциальными микроэлементами для растений. Для поддержания метаболизма растений необходимое содержание никеля составляет 0.01–5 мкг/г сухой массы, а меди от 1 до 20 мкг/г сухой массы [Кеситадзе Г.И., 2005]. В высоких концентрациях оба металла оказывают токсическое действие на растения. Цель данной работы состояла в выявлении адаптационного и фиторемедиационного потенциалов к меди и никелю в избыточных концентрациях у растения *Salvia officinalis* L.

Семена шалфея после стерилизации высевали в перлит и прорастивали сначала на дистиллированной воде, а затем на питательной среде Джонсона, модифицированной по Winter K. [Winter K., 2007]. Растения выращивали в водной культуре в факторостатных условиях. В питательную среду растений в возрасте 4 недель (фаза 6 - 8 настоящих листьев) одноразово добавили  $NiCl_2$  (25, 50, 100, 150, 200 мкМ), а в другие варианты  $CuSO_4$  (25, 50, 100, 150, 200 мкМ). Через 7 суток экспозиции на указанных средах оценивали металлоустойчивость растений по показателям роста, содержанию фотосинте-

тических пигментов [Lichtenthaler Н.К., 1987], пролина [Bates L.S., 1973] и малонового диальдегида (МДА) [Heath R.L., 1968]. В средних пробах корней и листьев содержание Cu и Ni в надземной массе и корнях растений определяли модифицированным методом [Голубкина Н.А., 1995].

С ростом концентраций в среде, как хлорида никеля, так и сульфата меди происходило снижение надземной массы растений, причем избыток  $\text{CuSO}_4$  более угнетающе действовал на накопление надземной массы растений, а  $\text{NiCl}_2$  на прирост биомассы корней. С возрастанием концентраций  $\text{NiCl}_2$  в питательной среде объем корневой системы шалфея снижался от 1,1 мл до 0,1 мл, а при воздействии  $\text{CuSO}_4$  с 0,5 мл до 0,1 мл, что в 3,5 раза меньше, чем при экспозиции на среде с хлоридом никеля. Растения, выращенные на среде сульфата меди, отличались по сравнению с действием хлорида никеля лучшим внешним видом, большей биомассой и количеством листьев.

Присутствие ТМ в среде угнетающе действовало на синтез фотосинтетических пигментов. Присутствие 150 мкМ  $\text{NiCl}_2$  в питательной среде привело к снижению суммарного содержания хлорофиллов (a и b) в листьях шалфея на 66 %, а каротина на 64 % по сравнению с контролем, а при 150 мкМ  $\text{CuSO}_4$  суммарное содержание хлорофиллов в листьях снизилось на 80 % и каротина на 75 % по сравнению с контролем.

Степень окислительного стресса в растениях оценивали по содержанию МДА как показателя перекисного окисления липидов мембран (ПОЛ). В присутствии 150 мкМ  $\text{NiCl}_2$  и  $\text{CuSO}_4$  уровень ПОЛ в надземной массе шалфея увеличивался в среднем в 3 раза по сравнению с контролем.

На фоне накопления ТМ в надземной массе растений происходили изменения в содержании свободного пролина – одного из индикаторов стресса у растений. При минимальной концентрации солей никеля (25 мкМ) содержание пролина в листьях увеличилось в 4 раза, а при 150 мкМ более чем в 19 раз по сравнению с контролем; при концентрации 25 мкМ  $\text{CuSO}_4$  в среде пролин повысился в 2 раза, а при 150 мкМ увеличился в 11 раз по сравнению с контролем. Рост содержания свободного пролина в листьях свидетельствует о включении защитных механизмов при воздействии ТМ.

При увеличении в среде концентраций, как хлорида никеля, так и сульфата меди происходило накопление соответствующих металлов в надземной массе и в корнях растений. Несмотря на высокие концентрации ТМ в среде (200 мкМ) растения шалфея сохраняли жизнеспособность, при этом содержание никеля в надземной массе достигало значений 600 мкг/г сухой массы, а содержание меди до 200 мкг/г сухой массы.

Сравнивая коэффициенты биологического поглощения (КБП) [Шарифзянов Р.Б., 2011] никеля и меди в надземной массе растений шалфея, можно заметить, что накопление никеля происходило интенсивнее, чем меди. Наибольшее значение КБП никеля и меди достигают при концентрации 100 мкМ, но коэффициент поглощения никеля в надземной массе растений в 2-3 раза превышал коэффициент поглощения меди. Таким образом, растения *Salvia officinalis* обладают достаточно низким к меди и умеренным к никелю адаптационными и фиторемедиационными потенциалами и могут быть использованы для очистки почв при умеренном загрязнении медью и высоком загрязнении никелем.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 07-04-00241-а.*

#### Литература

Голубкина Н.А. Флуориметрический метод определения селена // Журн. аналит. химии. – 1995. – Т. 50. – С. 492-497.

Кеситадзе Г.И., Хатисашвили Г.А., Садунишвили Т.А., Евстигнеева Е.Г. Метаболизм антропогенных токсикантов в высших растениях. – М.: Наука, 2005. – 199 с.

Шарифзянов Р.Б., Давыдова О.А., Климов Е.С. Коэффициент биологического



поглощения как один из критериев накопления ионов тяжелых металлов в различных породах древесных растений // Успехи современного естествознания. – 2011. – № 4 – С. 103-104.

Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies // Plant Soil. 1973. V. 39. P. 205–207.

Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in Isolated Chloroplasts. Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation // Arch. Biochem. Biophys. 1968. V. 125. P. 189–198.

Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and Carotenoids, Pigments of Photosynthetic Biomembranes // Methods in Enzymology. 1987. V. 148. P. 350–382.

Winter K., Holtum J.A.M. Environment or Development? Lifetime Net CO<sub>2</sub> Exchange and Control of the Expression of Crassulacean Acid Metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum* // Plant Physiol. 2007. V. 143. P. 98–107.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ НЕКОТОРЫХ ПЕРВИЧНЫХ И ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В УСТОЙЧИВОСТИ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ К НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ**

М.А. Стрелкова, Н.В. Кириллова

Санкт-Петербургская Государственная химико-фармацевтическая академия  
Минздравсоцразвития России, Санкт-Петербург, [biochemistry.dept@pharminnotech.com](mailto:biochemistry.dept@pharminnotech.com)

Защита от действия неблагоприятных факторов внешней среды – обязательное свойство всех живых организмов, в том числе и растений. Среди механизмов адаптации растений к неблагоприятным условиям внешней среды особое место занимают ответные реакции растительных клеток на температурный стресс. Характерным свойством растительных организмов является способность адаптироваться к низким температурам, что сопровождается значительными изменениями в их метаболизме. В данном исследовании изучали влияние низких положительных температур на антиоксидантную ферментативную активность и способность к синтезу некоторых вторичных метаболитов в культивируемых растительных клетках. Объектом исследования служила культура ткани *Polyscias filicifolia* Bailey (сем. Araliaceae), выращенная на стандартной агаризованной среде и модифицированной среде, обогащенной 1-гидроксигерматран моногидратом (LX-5) в концентрации 0,1г/л. Анализируемые образцы на конечных этапах культивирования (35-40 сутки) подвергали воздействию низких положительных температур (+4° С) в течение 5, 24, 48 и 72 часов. После низкотемпературной обработки в биомассе определяли содержание таких биологически активных веществ (БАВ), как суммарные углеводы [Захарова,1982], водорастворимые полисахариды (ВРП) [Захарова,1982] и суммарная гликозидная фракция (СГФ) [Антан,1995]. Среди механизмов адаптации особое место занимают ферменты антиоксидантной системы (АОС), ответственные за метаболизм кислорода в растительных клетках. Нами исследовалась роль ферментов АОС: каталазы [Спасенков,2006], супероксиддисмутазы (СОД) [Спасенков,2006], пероксидазы [Спасенков,2006] и фенолоксидазы [Ермаков,1972] в устойчивости биологических систем к низкотемпературному стрессу на модели контрольных и селективных штаммов *Polyscias*. Наряду с этим, также определялось содержание общего белка в анализируемых образцах [Спасенков,2006]. Сравнительный анализ экспериментальных данных по оценке содержания некоторых первичных и вторичных метаболитов в культивируемых клетках *Polyscias* выявил следующие закономерности.

Содержание суммарных углеводов в штамме *Polyscias* незначительно возросло после 5 и 72 часового стресса(8-9%). Культура *Polyscias*, выращенная на селективной

среде, характеризовалась резким снижением суммарных углеводов (на 38%) при 5-ти часовом холодовом стрессе. Более длительное воздействие низких температур приводило к нормализации этого параметра, а при 48 часовой экспозиции содержание суммарных углеводов возрастало более чем на 30% по сравнению с нормой. Содержание ВРП в культивируемых клетках *Polyscias* увеличивалось на 15% при 48 часовом холодовом стрессе и практически оставалось без изменений при 5, 24 и 72 часовой экспозиции. В селективном штамме незначительное возрастание этого показателя (11-12%) отмечали при низкотемпературной обработке культуры в течение 5-48 часов и увеличение содержания ВРП на 25% на фоне контрольных значений после 72 часового холодового шока. Содержание СГФ в культивируемых клетках *Polyscias* несколько возрастало при 5 и 48 часовом воздействии низких температур (до 5%). У селективного штамма отмечали однонаправленное изменение содержания СГФ: рост показателя (до 30%) на фоне контрольных значений. Разный характер изменений содержания основных БАВ в двух штаммах *Polyscias* свидетельствует о дифференцированном формировании порога устойчивости культивируемых клеток к низкотемпературным воздействиям. В культуре, выращенной на селективной среде, содержание основных БАВ даже при длительном холодовом стрессе (72 часа) значительно превышало численные значения этих показателей у культуры, выращенной на контрольной среде. Низкотемпературное воздействие на клетки культивируемых тканей приводит также к значительным изменениям активности ферментов, ответственных за метаболизм кислорода (каталаза, СОД, пероксидаза и фенолоксидаза). Экспериментальные данные представлены на рис. 1 и 2.



**Рис. 1.** Активность ферментов в культивируемых клетках *Polyscias* при стрессе.

Для культивируемых клеток *Polyscias*, выращенных на контрольной среде, было установлено следующее. Отмечено выраженное снижение каталазной активности (на 27% и 60%) в зависимости от срока температурного воздействия (24, 48, 72 часа). Активность СОД изменялась в меньшей степени. Отмечено снижение активности после 24 часового стресса (10%) и незначительное возрастание активности при более длительной экспозиции (до 12%). Активность пероксидазы также снижалась при 24 часовом воздействии (25%) и незначительно возрастала при более длительном воздействии холода (до 10%). Активность фенолоксидазы снижалась в большей степени (до 30%) при 48 часовом холодовом стрессе. Отмечалась также тенденция к снижению содержания белка при воздействии низких температур в течение 24 и 48 часов и падение его содержания на 30% при 72 часовой экспозиции. При выращивании культуры на селек-

тивной среде отмечались другие закономерности. Активность каталазы возрастала на 16% при 24 и 48 часовом стрессе и падала до 60% от исходной при 72 часовом воздействии. Активность СОД оказалась практически на одном уровне в контрольных и стресс-обработанных культур. Характер изменения пероксидазной активности при холодном стрессе был аналогичен изменениям в культуре, выращенной на контрольной среде (падение активности при 24 часовом стрессе и незначительное увеличение активности (до 15%) при более длительном холодном воздействии).

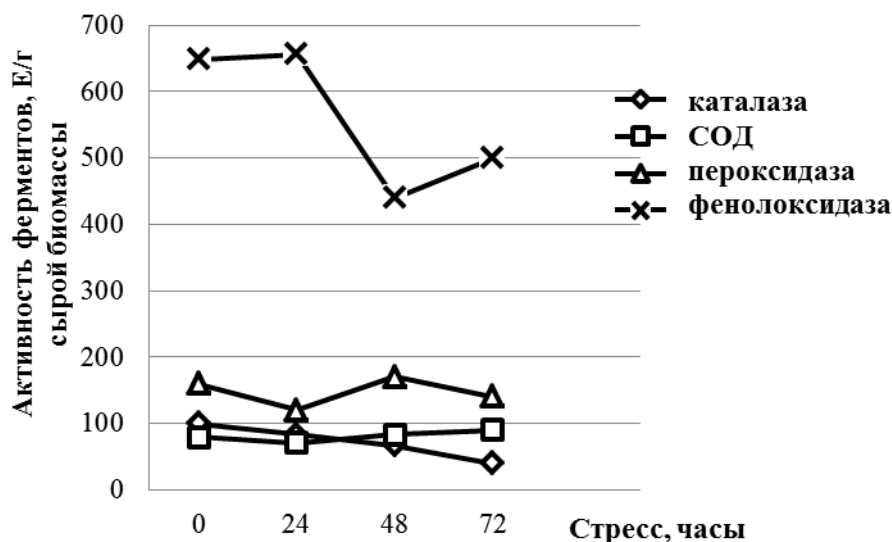


Рис. 2. Активность ферментов в культивируемых клетках *Polyscias LX-5* при стрессе.

Активность фенолоксидазы на всех сроках воздействия низких температур была ниже контрольных значений (до 35%). Содержание белка в культуре *Polyscias LX-5*, подвергнутой воздействию холода, практически не отличалось от контрольных значений. Результаты оценки антиоксидантной ферментативной активности и содержания белка в культивируемых клетках *Polyscias*, выращенных на контрольной и селективной среде, показали, что основными маркерами в повышении устойчивости штамма к стресс-факторам являются показатели уровня каталазной активности и содержания белка. Известно, что при низких положительных температурах в растениях накапливается большое количество сахаров, отмечается ритмичность повышения и понижения уровня гликозидов. Низкие температуры приводят также к значительным изменениям митохондриальной активности в растениях [Войников, 1987], что обуславливает стимуляцию тканевого дыхания и интенсификацию процессов, обеспечивающих метаболизм кислорода в клетках. Нами показано, что включение германия в среду культивирования активизирует адаптационные возможности клетки и увеличивает порог адаптации к низкотемпературному стрессу.

#### Литература

Антан И.С., Слепян Л.И., Минина С.А. Разработка метода количественного спектрофотометрического определения основных действующих веществ в препаратах селективного штамма женьшеня // Хим.-фарм. журн., 1995. - № 6. - С. 57-61.

Войников В.К. Температурный стресс и митохондрии растений. – Новосибирск: Наука, 1987. – 132с.

Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений. – Ленинград: Колос, 1972. - 455с.

Захарова И.Я. Методы изучения микробных полисахаридов. – Киев, 1982. - 189с.

Спасенков А.И., Стрелкова М.А., Спасенкова О.М., Слепян Л.И., Кириллова Н.В. Некоторые биохимические показатели культуры ткани *Polyscias*, выращенной на различных средах // Растительные ресурсы, 2006. – № 3. – С.101-111.

## ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ И РОСТОВЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТИТЕЛЬНОГО ОРГАНИЗМА

М.А. Стрелкова, О.М. Спасенкова, Н.В. Кириллова

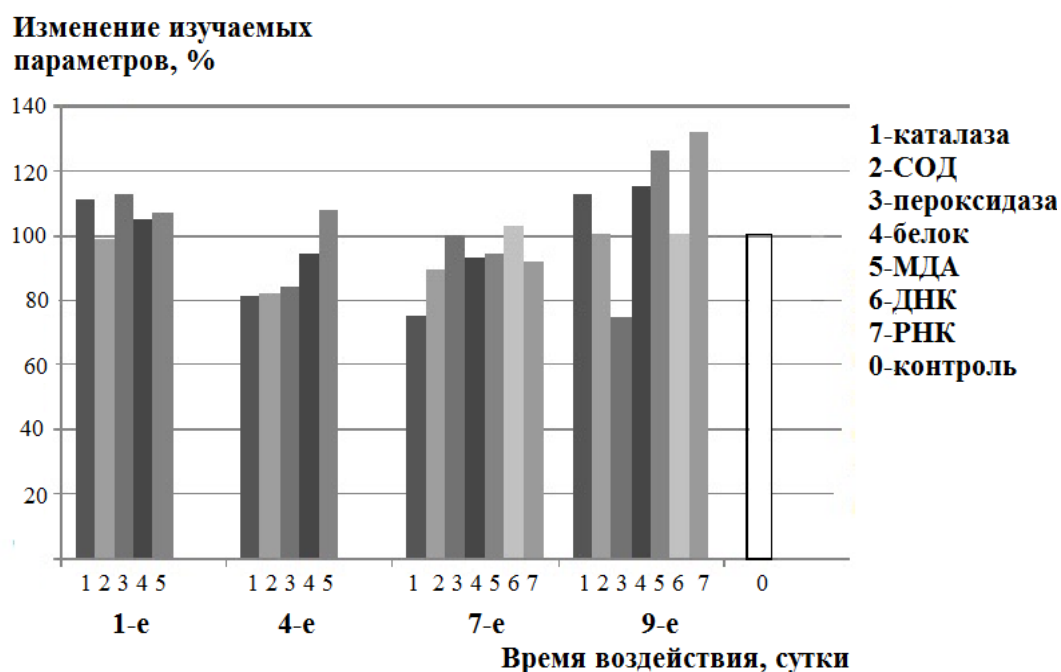
Санкт-Петербургская Государственная химико-фармацевтическая академия  
Минздравсоцразвития России, Санкт-Петербург, biochemistry.dept@pharminnotech.com

Актуальность исследования механизмов воздействия постоянного магнитного поля (ПМП) на организм связана не только с огромной биологической значимостью проблемы, но также и с тем, что реакция на воздействие ПМП является важнейшим экологическим фактором и носит информационную природу, оптимизируя адаптационные резервы организма. Воздействие электромагнитных излучений проявляется на всех уровнях организации живого организма. Так, на молекулярном уровне наблюдается изменение конформации белков, угнетение репликации, на клеточном уровне – остановка деления и гибель клеток, на организменном уровне – проявление рецессивных, спонтанных и индуцированных мутаций. Особенно важно, что организм является открытой неравновесной системой, которая реагируя на стресс-воздействие, не обязательно возвращается в исходное состояние и может перейти в иное качественное состояние. В данной работе представлены данные по оценке биохимических показателей культивируемых тканей семейства Аралиевых при воздействии постоянного магнитного поля. Объектом исследования была культура ткани *Polyscias filicifolia* Bailey (Полискиас), выращенная на стандартной агаризованной среде. Изучали воздействие постоянного магнитного поля на культуру ткани Полискиас на начальных этапах культивирования и на стадии активного роста (лаг- и фаза экспоненциального роста) в рамках одного пассажа. Культура (1-20 сутки роста) подвергалась воздействию магнитного поля в течение 1, 4, 7 и 9 суток.

В качестве источника постоянного магнитного поля был выбран спеченный NdFeB (неодим-железо-бор) магнит производства « Тульского завода постоянных магнитов». Остаточная магнитная индукция равна 1,44-1,5 Тл, максимальная магнитная энергия составляет 398-430 кДж/м<sup>3</sup>. Магнит расположен таким образом, чтобы оба полюса находились в плоскости, параллельно поверхности стола. Колбы со штаммом были расположены по периметру магнита, а через равные промежутки времени их перемещали на одну позицию для исключения влияния полярности.

В качестве маркерных показателей физиологического состояния растительных клеток были выбраны следующие критерии. Уровень антиоксидантной защиты и устойчивость к окислительному стрессу оценивали по состоянию активности каталазы [Комов, 1975], супероксиддисмутазы (СОД) [Misra, 1972], и пероксидазы [Bovaird, 1982]. О митотической активности культивируемых клеток судили по содержанию ДНК и суммарного пула РНК [Ермаков, 1972]. Ростовые процессы в клетках оценивали по накоплению и содержанию внутриклеточного белка [Lowry, 1951]. В повреждении структуры клеточных мембран при различных стрессовых воздействиях активную роль играют процессы перекисного разрушения их липидных компонентов под действием различных эффекторов. О структурных нарушениях клеточных мембран судили по оценке содержания малонового диальдегида МДА [Васильева, 2005] при воздействии ПМП.

При действии магнитного поля на рекультивируемые клетки ткани Полисциас можно отметить следующие закономерности, рис. 1. При воздействии постоянного магнитного поля (ПМП) в течение 1-ых суток роста отмечается рост таких показателей как активность каталазы и пероксидазы на фоне увеличения содержания белка и МДА.



**Рис.1. Воздействие магнитного поля на биохимические показатели культивируемых клеток *Polyscias filicifolia* в экспоненциальной фазе роста.**

Известно, что абиотические стрессы, к которым можно отнести и воздействие постоянных магнитных полей, приводит к повышенной генерации активных форм кислорода, которые являются важными сигнальными молекулами в регуляции различных клеточных процессов. Активацию ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ) при данном кратковременном воздействии ПМП можно связать с адаптационными процессами в ответ на стресс, вызванный как магнитным излучением, так и стрессом, обусловленным пересадкой культуры.

В экспоненциальной фазе роста, в активно делящихся клетках, интенсифицируются процессы клеточного дыхания, сопровождающиеся усилением процессов утилизации молекулярного кислорода и, как следствие, изменением активности ферментов антиоксидантной защиты (каталаза, СОД, пероксидаза). В ряде работ было установлено, что после воздействия стрессовых факторов уровень перекиси водорода в растительных клетках резко возрастает. Именно этот фактор играет важную роль в развитии антистрессовых защитных механизмов в растительных клетках, поскольку перекись водорода является основным субстратом для таких ферментов как каталаза и пероксидаза. Продолжительное образование эндогенных кислородных радикалов приводит к усиленной утилизации антиоксидантных ферментов, таких как каталаза, СОД и пероксидаза. Как видно из представленных данных, (рис.1) при воздействии ПМП активность каталазы возрастала на 11% - 14% при кратковременном (1 сутки) и длительном его воздействии (9 суток). При 4-х и 7-ми суточном воздействии ПМП активность каталазы снижалась на 18% и 25%. Активность СОД снижалась на 10% -18% при 4-х и 7 – ми суточном воздействии и практически не изменялась при 1 суточной и 9 суточной экспозиции. Не исключено, что значительное снижение активности каталазы (на 25%) и СОД (на 18%) происходит за счет снижения скоростей биосинтеза этих ферментов под

действием электромагнитных полей. При более длительном воздействии ПМП (в течение 9 суток) возрастает активность каталазы, и отмечается тенденция к возрастанию активности СОД, что, вероятно, обусловлено стимулирующим действием магнитных полей на биосинтетическую активность данных ферментов. Активность третьего фермента антиоксидантной защиты – пероксидазы возрастала при суточном воздействии ПМП и резко снижалась при длительной экспозиции (на 25% по сравнению с нормой). Этот факт мы связываем либо со снижением биосинтеза этого фермента, либо с усиленной его утилизацией в связи с суперпродукцией основного субстрата пероксидазы - перекиси водорода после длительной экспозиции культуры в магнитном поле. На данном этапе исследования нами изучалась также пролиферативная активность культивируемых клеток (по оценке общего содержания ДНК и РНК). При облучении культуры в течение 7 суток отмечалось незначительное увеличение содержания ДНК (4%) и снижение содержания РНК на 8%. При более длительном воздействии ПМП (облучение в течение 9 суток) суммарное содержание РНК в культивируемых клетках возрастает на 32%. Не исключено, что уровень содержания суммарных РНК (матричная активность) обуславливает внутриклеточные колебания содержания общего белка в культивируемых клетках. Белоксинтезирующая активность (оценивали по содержанию общего белка) в культуре менялась фазно в зависимости от дозы эффектора. При воздействии ПМП на культивируемые клетки в течение 7 суток содержание белка в них падало на 18% по сравнению с контролем. При более длительной экспозиции (9 суток) содержание белка увеличивалось на 16%. Изменения ферментативной активности в культивируемых клетках коррелируют с резким возрастанием МДА (на 27%). Этот факт свидетельствует о нарушении проницаемости клеточных мембран и возможном перераспределении клеточных метаболитов, что, вероятно, и обуславливает повышенное содержание белка в культивируемых клетках вследствие увеличения исходного пластического материала – пула аминокислот. Таким образом, ПМП вызывало существенные изменения уровня активности ферментов антиоксидантной защиты. Длительное воздействие магнитного поля вызывало спад в активности СОД и пероксидазы, а также приводило к повреждению структуры клеточных мембран. Показан стимулирующий эффект постоянного магнитного поля на тотальное содержание РНК и белка.

#### Литература

- Васильева И.С., Ванюшкин С.А., Зиновьева С.В. Адаптогенное действие фураностаноловых гликозидов на окислительные процессы в условиях биотического стресса. // Прикладная биохимия и микробиология, 2005. – Т. 41. - № 3. – С.347 - 353
- Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений.-Ленинград: Колос,1972.- 455 с.
- Комов В.П., Шмелев В.К.О некоторых особенностях кинетики ферментативных реакций на примере каталазы // Биохимия,1975.-Т.40. - № 4 .- С.21-24
- Bovard J.H., Ngo T.T., Jen Hott Y.M. Optimization the o-phenilendiamine assay for horse-radish peroxidase: effect of phosphate and pH, substrate and enzyme concentrations and stopping reagent // Clin.Chem., 1982. – V.28. – P.2423 – 2426.
- Lowry O.H., Rossenbrough N.J., Farr A.R., Randal R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem., 1951. - V.193. - P.2423-2426
- Misra H.P., Fridovich I. The univalent reduction of oxygen by flavins and quinines// J.Biol. Chem., 1972. – V.247. - № 247. – P.188-192.

## РЕАКЦИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ НА ВОДНЫЙ ДЕФИЦИТ

Н.Е. Судачкова, И.Л. Милютина, Л.И. Романова

Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, biochem@ksc.krasn.ru

Основные лесообразующие виды хвойных Сибири, среди которых сосна обыкновенная отличаются высокой экологической пластичностью, в естественных условиях произрастания подвергаются действию различных стрессовых воздействий. Один из широко распространенных природных стрессов, негативно влияющий на продуктивность, не только в южных районах, но и на севере - водный дефицит. Сосна обыкновенная – один из наиболее засухоустойчивых видов хвойных. По современным представлениям неспецифической реакцией растений на стресс является повышенная интенсивность образования активных форм кислорода в растительных клетках (Мерзляк, 1989). Стрессовое состояние, вызванное дефицитом влаги, также может проявляться как окислительный стресс, при котором образуется значительное количество свободных радикалов, представляющих угрозу для жизнедеятельности клеток (Blokhina et al, 2003). Действие этих сильных окислителей может быть нейтрализовано только ответной реакцией эффективной антиоксидантной системы защиты растительных клеток, важнейшими элементами которой являются ферментные системы, а также ряд метаболитов, участвующих в контроле уровня свободных радикалов. В связи с этим была поставлена задача сопряженного изучения процесса ксилогенеза и системы антиоксидантной защиты в тканях сосны обыкновенной в условиях водного дефицита.

В опыте, имитирующем почвенную засуху, по 20 экз. самосева сосны в возрасте 7-9 лет пересаживали в две емкости размером 3х6 м из гидроизоляционного материала. Через год опытную емкость защищали от поступления атмосферных осадков навесом из полиэтиленовой пленки. В середине (июль) и в конце (сентябрь) вегетационного периода выкапывали по 6 деревьев с контрольного и опытного участков. Измеряли длину хвои и проводили определение фотосинтетических пигментов (хлорофиллов и каротиноидов), со стволов и скелетных корней снимали коровой комплекс включая луб. Со стволов соскабливали прикамбиальный слой ксилемы текущего года, луб отделяли от коры. В июле со стороны луба (где в этот период локализуются камбиальные клетки) делали соскоб ткани и выжимали из него сок. В образцах ксилемы и луба и сока определяли активность пероксидазы, супероксиддисмутазы (СОД), глутатионредуктазы, кислой инвертазы, амилазы и содержание пероксида водорода и малонового диальдегида (МДА). Структуру годичного кольца древесины изучали с помощью светового микроскопа на срезах на уровне корневой шейки. Проводили определение влажности хвои и почвы.

В июле различия во влажности хвои не превышают 2%, осенью влажность хвои текущего года составляла 59% против 66% в контроле, а влажность двухлетней хвои 55% против 66% в контроле. Влажность почвы в июле составляла в опыте на глубине 30 см 10% , в контроле 15%, в сентябре 8% и 22% соответственно, что указывает на усиление водного стресса.

Дефицит влаги в почве вызывал существенные структурные и биохимические изменения саженцев. Прирост верхушечного побега в опыте составил 75% от контроля, длина хвои - 70%, масса хвои - 64%, число трахеид в радиальном ряду годичного слоя древесины -58%. Засуха изменяет программу работы камбия, переключая ее на формирование поздней древесины. Поздняя древесина, образовавшаяся во время засухи, отличается от нормальной меньшими размерами клеток (65%), люменов (78%) толщиной клеточных стенок (79%) Морфологические изменения сопровождаются биохимически-

ми: наблюдается 15%ное снижение концентрации хлорофилла *a* в хвое, рост концентрации хлорофилла *b* на 13% и увеличение концентрации каротиноидов на 15%, последнее свидетельствует об усилении антиоксидантной защиты (Wieser et al.2003).

В июле в дифференцирующейся ксилеме стволов сосны опытных деревьев по сравнению с контролем возросла лишь активность СОД, во флоэме ствола, ксилеме и флоэме корней все показатели оказались равны или ниже контрольных. В камбиальном соке, собранном в июле, отмечается пятикратное по сравнению с контролем увеличение активности СОД. Поскольку основная функция СОД - перевод агрессивной формы супероксидного анион-радикала ( $O_2^{\cdot-}$ ), образующегося в различных физиологических процессах, в более стабильное соединение  $H_2O_2$ , то следует ожидать возрастания концентрации пероксида водорода, что и было зафиксировано (концентрация  $H_2O_2$  оказалась выше контроля на 68%)

В конце вегетационного периода по сравнению с июлем на фоне снижения влажности почвы в дифференцирующейся ксилеме стволов сосны при одном и том же уровне активности пероксидазы отмечается существенное увеличение концентрации пероксида водорода, МДА и глутатионредуктазы и снижение активности СОД, амилазы и инвертазы (в 8 раз). В лубе ствола возрастает активность пероксидазы, содержание пероксида водорода, СОД, МДА и амилазы, как и в ксилеме сильно снижается активность инвертазы (в 6 раз). В ксилеме корней уровень активности пероксидазы остается неизменным, накапливается пероксид водорода, отмечается тенденция к увеличению концентрации МДА и возрастает активность инвертазы. В лубе корней увеличивается содержание пероксида водорода, МДА, глутатионредуктазы и инвертазы (в 7 раз), сильно снижается активность пероксидазы и СОД.

Очевидно, что, общей стрессовой реакцией для всех тканей при усилении водного дефицита является накопление МДА и пероксида водорода. Реакция пероксидазы, СОД и глутатионредуктазы ткане- или органоспецифичны. Ранее в кратковременном опыте на различных органах сеянцев сосны нами было показано, что сильнее всего изменяется активность оксидо-редуктаз в корнях сеянцев – органах, непосредственно подвергающихся иссушению (Судачкова и др. 2012). В нашем опыте обнаруживается сильное снижение активности пероксидазы и СОД в лубе корней, что наряду с накоплением МДА и пероксида водорода свидетельствует об ослаблении антиоксидантной защиты и возможно наступлении истощительной фазы водного стресса. Увеличение активности глутатионредуктазы в дифференцирующейся ксилеме ствола и лубе корней укладывается в общее представление о защитной роли этого фермента в условиях жесткого водного дефицита (Shvaleva et al. 2005). Оценивая реакцию ферментов углеводного обмена на водный стресс, необходимо отметить низкий уровень активности инвертазы и ее падение с усилением стресса в стволовой части растений и резкое возрастание в тканях корней. Как было показано ранее, почвенная засуха приводит к накоплению низкомолекулярных углеводов только в тканях корней сосны, но не в стволе (Судачкова и др. 2009), хотя в нашем опыте активность амилазы усиливается только в тканях ствола и прямой связи между содержанием углеводов и активностью амилазы и инвертазы не прослеживается.

Таким образом, водный стресс инициирует проявления окислительного стресса в прикамбиальной зоне ксилемы и лубе сосны обыкновенной, что приводит к нарушению процесса ксилогенеза, выражающееся в ослаблении пролиферативной активности камбиальных инициалей и роста клеток растяжением.

#### Литература

Мерзляк М. Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки // Итоги науки и техники.Сер.Физиология растений.-1989.-



Т.6.-167 с.

Судачкова Н.Е., Милютин И. Л., Романова Л. И. Биохимическая адаптация хвойных к стрессовым условиям Сибири. Новосибирск: Изд-во «Гео», 2012. - 178 с.

Судачкова Н.Е., Милютин И.Л., Романова Л.И. Адаптивная реакция сосны обыкновенной на негативное воздействие абиотических факторов в ризосфере // Экология, 2009.- № 6.- С. 411-416

Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivative stress: a review // Annals of Botany, 2003.- V. 91.- P. 179-194.

Shvaleva A.L., Silva C.E., Breia E., Jouve L., Hausman J.F., Almeida V.H., Maroco J.P., Rodrigues M.L., Pereira J.S., Chaves M.M. Metabolic responses to water deficit in two Eucalyptus globules clones with contrasting drought sensitivity //Tree Physiol.. 2005.-V.26.- P. 239-248.

Weisner G., Hecke K., Tausz M., Häerle K.-H., Grams T.E.E., Matyssek R. The influence of microclimate and tree age on the defense capacity of European beech (*Fagus sylvatica* L.) against oxidative stress // Ann.For. Sci. 2003.- V.60.- No 2.- P.131-135.

## **УЧАСТИЕ ГЕНОВ ХОЛОДОВОГО ОТВЕТА В РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ НА СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

В.В. Таланова, А.Ф. Титов, Н.С. Репкина

Институт биологии Кар НЦ РАН, Петрозаводск, Talanova@Krc.Karelia.Ru

В естественных условиях растения могут подвергаться действию не одного, а двух и более стресс-факторов разной природы, например, низкой температуры и тяжелых металлов. Однако механизмы комбинированного действия разных стресс-факторов на растения изучены пока очень слабо. Известно, что в процессах адаптации растений к действию низких температур важную роль играют гены *COR* (cold responsive) [Chinpusamy et al., 2005; Kume et al., 2005; Таланова и др., 2009], которые кодируют *COR*-белки, участвующие в повышении морозоустойчивости [Thomashow, 1999]. В то же время возможность участия *COR*-генов в ответных реакциях растений на совместное действие низких температур и тяжелых металлов пока не исследована. Учитывая это, нами изучено изменение уровня экспрессии *COR*-генов *WRAB15* и *WRAB18* при действии на растения пшеницы низкой положительной температуры и одного из наиболее токсичных тяжелых металлов – кадмия, а также при их совместном действии.

Исследования проводили с проростками озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, выращенными в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе Кнопа с добавлением микроэлементов (рН 6.2) в камере искусственного климата при температуре воздуха 22°C, его относительной влажности 60–70%, освещенности 10 клк и фотопериоде 14 ч. По достижении недельного возраста проростки в течение 7 сут подвергали воздействию температуры 4°C или сульфата кадмия (100 мкМ), а также их совместному действию, сохраняя прочие условия неизменными.

О морозоустойчивости проростков судили по температуре, вызывающей гибель 50% палисадных клеток листа ( $LT_{50}$ ) после 5-минутного тестирующего промораживания в термостате ТЖР–02/–20 («Интерм», Россия) [Дроздов, Курец, 2003]. При этом жизнеспособность клеток оценивали с помощью светового микроскопа Микмед-2 («ЛОМО», Россия) по деструкции хлоропластов и коагуляции цитоплазмы.

Для выделения РНК навеску листьев пшеницы растирали в жидком азоте. Тотальную РНК выделяли с помощью набора YellowSolve («Силекс», Россия). кДНК синтези-

ровали, используя набор для обратной транскрипции с M-MLV обратной транскриптазой и случайными гексапраймерами («Силекс»). Количество и качество кДНК проверяли спектрофотометрически на приборе SmartSpec Plus («Bio-Rad», США). Содержание транскриптов генов анализировали с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. В качестве флуорофора для детекции продуктов применяли интеркалирующий краситель SYBR Green («Синтол», Россия). Амплификацию проводили в приборе iCycler с оптической приставкой iQ5 («Bio-Rad»), используя набор для проведения ПЦР РВ («Синтол»). Для ПЦР в режиме реального времени применяли праймеры («Синтол»). В качестве референтного гена использовали актин.

Исследование показало, что уже через 1 ч от начала действия температуры 4°C устойчивость клеток листьев проростков пшеницы к промораживанию достоверно возросла, а на вторые сутки она достигала своего максимума и в дальнейшем не изменялась. Под влиянием кадмия также происходило быстрое, но меньшее по величине повышение устойчивости листьев к промораживанию, однако при более длительном (3 сут и более) воздействии отмечено ее снижение до исходного уровня. Совместное действие низкой температуры и кадмия в течение 3 сут также приводило к повышению холодоустойчивости, хотя ее прирост в этом случае был несколько ниже, чем при действии только холода.

ПЦР-анализ показал, что в начальный период действия (5 ч) температуры 4°C уровень экспрессии генов *WRAB15* и *WRAB18* в листьях проростков пшеницы не изменяется, но через 1 сут происходит резкое его увеличение, сохраняющееся в течение последующих 2–3-сут действия холода. В дальнейшем (7 сут) отмечено некоторое снижение уровня экспрессии генов *WRAB15* и *WRAB18*, но и в этом случае он значительно превышал исходные значения.

Воздействие кадмия на проростки в течение первых суток практически не сказывалось на экспрессии гена *WRAB15* в листьях, но при увеличении экспозиции (2–7 сут) наблюдалось накопление транскриптов этого гена. При кратковременном воздействии (1 ч) кадмия на проростки изменений в экспрессии другого гена (*WRAB18*), также как и при действии холода, не отмечено. Хотя в дальнейшем (5 ч) она заметно усиливалась и сохранялась на повышенном уровне в течение всего периода действия металла.

Совместное действие кадмия и низкой температуры приводило к значительному повышению уровня экспрессии генов *WRAB15* и *WRAB18*, который сохранялся в течение всего опыта.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что уровень экспрессии генов *WRAB15* и *WRAB18* значительно возрастает не только под влиянием низкой закаливающей температуры, но и кадмия, а также при их совместном действии. Учитывая, что кодируемые этими генами COR белки защищают клеточные структуры от обезвоживания и выполняют функции молекулярных шаперонов [Thomashow, 1999], логично предполагать, что отмеченное нами усиление экспрессии изученных генов является частью неспецифического адаптивного ответа растений на действие стресс-факторов разной природы.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашения № 8050 и № 2012-1.3.2-12-000-1001-028.*

#### Литература

Дроздов С.Н., Курец В.К. Некоторые аспекты экологической физиологии растений. Петрозаводск: ПетрГУ, 2003.– 172 с.

Таланова В.В., Титов А.Ф., Топчиева Л.В., Малышева И.Е., Венжик Ю.В., Фролова С.А. Экспрессия генов транскрипционного фактора *WRKY* и стрессовых белков у растений пшеницы при холодом закаливании и действии АБК // Физиология расте-

ний, 2009. – Т.56. – №5. – С. 776-782.

Chinnusamy V., Zhu J., Zhu J.-K. Gene regulation during cold acclimation in plants // *Physiol. Plant.*, 2006. – V.126. – P. 52-61.

Kume S., Kobayashi F., Ishibashi M., Ohno R., Nakamura C., Takumi S. Differential and coordinated expression of *Cbf* and *Cor/Lea* genes during long-term cold acclimation in two wheat cultivars showing distinct levels of freezing tolerance // *Genes Genet. Syst.*, 2005. – V.80. – P. 185-197.

Thomashow M.F. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms // *Annu. Rev. Plant Mol. Biol.*, 1999. – V.50. – P. 571-599.

## ЛОКАЛИЗАЦИЯ НИКЕЛЯ В ТКАНЯХ ГИПЕРАККУМУЛЯТОРА *ALYSSUM OBOVATUM* (С.А. МЕУ.) TURCZ.

А.Ю. Тептина, А.Г. Пауков

УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, [ateptina@gmail.com](mailto:ateptina@gmail.com)

Почвы ультраосновных (серпентинитовых) горных пород характеризуются относительно высокими концентрациями тяжелых металлов, в частности Ni, Cr и Co [Baker, Brooks, 1989]. Представители серпентинитовых флор в процессе эволюции выработали механизмы устойчивости к тяжелым металлам. В состав таких флор входят виды, обладающие одной из четырех стратегий – исключители, индикаторы, аккумуляторы и гипераккумуляторы [Baker, 1981; Baker, Brooks, 1989]. Большинство видов серпентинитовых флор входят в группу исключителей, демонстрирующих незначительное повышение концентрации тяжелых металлов в надземной массе при повышенном содержании в почве.

Особый интерес представляют виды-гипераккумуляторы тяжелых металлов. Доля этих видов в составе сообществ крайне мала. Способность к активному поглощению и значительному накоплению тяжелых металлов в надземных тканях этих видов обусловлена генетически. Концентрация никеля в их надземной массе составляют более 0,1% сухой массы (более 1000 мг/кг сухой массы) [Brooks, 1998; Reeves, 2006; Verbruggen *et al.*, 2009; Rascio *et al.*, 2011]. Поэтому гипераккумуляторы тяжелых металлов сегодня рассматриваются в качестве модельных объектов для изучения механизмов накопления токсических химических элементов в надземной массе и процессов детоксикации их в тканях растений.

Виды-гипераккумуляторы тяжелых металлов обладают устойчивостью к металлам на клеточном уровне, благодаря функционированию механизмов детоксикации. Установлено, что немаловажную роль при этом играет образование комплексов с металлами [Clemens, 2006]. Накопление комплексов происходит в эпидермальных тканях, трихомах, апопласте и вакуолях. Исследования локализации никеля в тканях гипераккумуляторов рода *Alyssum* проводились ранее для *A. lesbiacum* [Krämer *et al.*, 1997], *A. obtusifolium* [Orcan *et al.*, 2003], *A. inflatum* [Ghasemi *et al.*, 2009], *A. murale* [Bani *et al.*, 2010] и др.

Исследование ультраосновных массивов Южного и Среднего Урала позволило выделить один вид гипераккумулятор никеля – *Alyssum obovatum* (С.А. Меу.) Turcz. [Тептина, Пауков, 2012]. *Alyssum obovatum* на Урале встречается на разных типах горных пород и является факультативным серпентинофитом. Это полукустарничковое растение (5-15(30) см выс.) из семейства *Brassicaceae* встречается в Европе, Европейской части России, на Урале, Западной и Восточной Сибири, Дальнем Востоке, Северном Китае, Монголии. Растет на каменистых и щебнистых остепненных склонах. По-

пуляции вида, распространенные на ультраосновных породах, показывают способность к накоплению высоких концентраций никеля в надземных органах без негативных последствий для самого растений.

Проведенные нами исследования химического состава почв ультраосновных массивов показали высокое содержание Ni (360,00-2361,76 мг/кг) и Cr (128,89-1026,00 мг/кг). Также был отмечен низкий уровень Ca, K, Na. Количество Mg, как правило, превышает количество Ca (высокие значения Mg/Ca соотношения (2,02-11,50) для большего числа массивов). pH почвы, формирующейся на ультраосновных породах, составляет 5,94-7,50.

В разных ультраосновных массивах *A. obovatum* показывает различные уровни накопления никеля. Наибольшее количество обнаружено в растениях Кракинского массива (6003 мг/кг), меньшее количество никеля содержится в растения, собранных в Сугомакском массиве (521 мг/кг). В целом, на Южном Урале содержание Ni у *A. obovatum* достоверно выше, чем у растений из Среднего Урала (массивы Пышминский и Алапаевский).

Проведено изучение локализации никеля в тканях *A. obovatum*. Целью данной работы было определить локализацию никеля в надземных тканях и оценить значение трихом в накоплении никеля. Анализ распределения никеля в тканях проводился с использованием диметилглиоксимового теста [Seregin et al, 2003; Gramlich, 2008]. Диметилглиоксим (ДМГ) образует с солями никеля красный нерастворимый осадок ДМГ никеля  $(C_4H_7O_2N_2)_2Ni$ , являющегося внутриклеточным соединением и используется для качественного и количественного определения этого элемента. Нами исследовались надземные побеги *A. obovatum*. С помощью микротомы были подготовлены поперечные срезы средней части стебля и среднего развитого листа. Полученные срезы обрабатывались раствором ДМГ (1г ДМГ, 1,5 г NaOH и 100 мл 0,05M  $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ ). Трихомы механически удалялись с поверхности листьев и обрабатывались на предметном стекле раствором ДМГ. Оценка содержания никеля в тканях проводилась полуколичественным методом по интенсивности окрашивания клеток. Полученные фотографии отражали уровни содержания никеля в тканях листа и стебля. Повышенное содержание никеля было хорошо заметно по наличию покраснения отдельных клеток. Интенсивность окрашивания служила показателем уровня содержания никеля в тканях.

Изучение срезов листа выявило накопление высоких концентраций никеля в эпидермальных клетках. В клетках мезофилла изменения окраски не наблюдалось, что свидетельствует о незначительном содержании никеля, наличие небольшого количества этого металла было отмечено в клеточных стенках и в межклеточном пространстве. Слабое окрашивание наблюдалось в проводящих пучках листовой пластинки.

Значительно меньшие концентрации никеля были зафиксированы в трихомах, об этом свидетельствует их слабо розовое окрашивание. Причем наиболее интенсивное окрашивание наблюдалось в базальной части трихомы, в месте контакта с эпидермисом. Слабое окрашивание было зафиксировано в разветвленной периферической части. Трихомы в пределах листовой пластинки отличаются различной степенью окрашивания. Так, наиболее интенсивное окрашивание трихом наблюдалось по краям листовых пластинок и в районе центральной жилки. В центральной части листовой пластинки трихомы окрашивались слабо.

Анализ срезов стебля показали накопление подавляющего количества никеля в клетках эпидермы, имеющих после окрашивания интенсивно пурпурную окраску. Это согласуется с имеющимися данными, полученными для других представителей рода *Alyssum*. Трихомы стебля также были интенсивно окрашены в базальной части, практически не были окрашены их радиальные лучи.

Локализация никеля в отдельных тканях, клетках и межклеточном пространстве

рассматривается как один из механизмов устойчивости видов-гипераккумуляторов к тяжелым металлам. Полученные данные свидетельствуют о том, что максимальные концентрации никеля накапливаются в эпидермальном слое листьев и стеблей. Компартиментация никеля в эпидермальных тканях обеспечивает снижение концентрации никеля в тканях и как следствие снижение его токсичности для растения в целом. Площадь поверхности эпидермиса листьев значительно больше площади поверхности эпидермиса стеблей, поэтому листья несут наибольшую нагрузку по детоксикации никеля. Кроме этого, у *A. obovatum* существует механизм сбрасывания листьев в период после цветения. К моменту созревания плодов растение полностью избавляется от листьев на генеративных побегах, снижая общее количество никеля в надземной массе, и существует за счет новой генерации листьев образующихся на вегетативных побегах этого года. Таким образом, наибольшую роль в детоксикации никеля и снижении его содержания в надземных тканях играют эпидермальные клетки листьев. Роль трихом в накоплении никеля незначительна.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 11-04-00371а.*

#### Литература

Тептина А.Ю., Пауков А.Г. Петрофитно-степная флора и растительность гипербазитов Южного Урала // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2012. Т. 14, № 1(7). – С.1860-1863.

Baker A.J.M. Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to trace metals // J. Plant Nutr., 1981. – V.3. – P. 643-654.

Baker A.J.M., Brooks R.R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements – a review of their distribution, ecology and phytochemistry // Biorecovery, 1989. – V.1. – P. 81-126.

Bani A., Thoma F., Skura E. Echevarria G., Sulce S. Morel J.L. Biodiversity in Metal Rich Soil // BALWOIS, 2010. – Ohrid, Republic of Macedonia. URL: [http://www.balwois.com/balwois/administration/full\\_paper/ffp-1385.pdf/](http://www.balwois.com/balwois/administration/full_paper/ffp-1385.pdf/) (дата обращения: 25.02.2013).

Brooks R.R. Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals. – Wallingford, UK. CAB International, 1998. – 380 p.

Clemens S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants // Biochimie, 2006. – 88. – P. 177-1719.

Ghasemi R, Ghaderian SM, Krämer U. Interference of nickel with copper and iron homeostasis contributes to metal toxicity symptoms in the nickel hyperaccumulator plant *Alyssum inflatum* // New Phytol., 2009. – 184(3). – P. 566-580.

Gramlich A. Development of a semi-quantitative method to determine the distribution of Ni in hyperaccumulator plants. Diploma Thesis. Institute of Terrestrial Ecosystems, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Switzerland, 2008. – 53 p.

Krämer U., Grime G.W., Smith J.A.C., Hawes C.R., Baker A.J.M. Micro-PIXE as a technique for studying nickel localization in leaves of hyperaccumulator plant *Alyssum lesbiacum* // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B, Beam Interactions with Materials and Atoms, 1997. – 130. P. 346-350.

Orcan N., Binzet R. The Anatomical and Palynological Properties of *Alyssum obtusifolium* Steven ex DC. (*Brassicaceae*) // Turk. J. Bot., 2003. – 27. P. 63-68.

Rascio N., Navari-Izzo F. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? // Plant Science, 2011. – 180. – P. 169-181.

Reeves R.D. Hyperaccumulation of trace elements by plants // Phytoremediation of metal-contaminated soils. – Springer-Verlag. NATO science series: IV: earth and environmental sciences, 2006. – Vol. 68. – P. 25-52.

Seregin I.V., Kozhevnikova A.D., Kazyumina E.M., Ivanov V.B. Nickel toxicity and distribution in maize roots // Russian J. Plant Physiol., 2003. – 50(5). – P. 793-800.

Verbruggen N., Hermans C., Schat H. Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants // New Phytol., 2009. – 184. – P. 759-776.

## **ВОДОУДЕРЖИВАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ И ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ СОРТОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ СТЕПНОЙ ВОЛЖСКОЙ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ГРУППЫ В СТЕПИ ОРЕНБУРГСКОГО ПРЕДУРАЛЬЯ**

Т.А. Тимошенкова

ГНУ Оренбургский НИИСХ РАСХН, Оренбург, tim2233@mail.ru

Оренбургская область в агроклиматическом плане относится к регионам с резкой континентальностью климата. Территория области часто подвергается воздействию засух и суховеев различной степени. Наблюдаются неравномерность выпадения атмосферных осадков в период вегетации сельскохозяйственных культур, резкие колебания температурного режима воздуха и почвы, как во время развития растений, так и по годам. В этих условиях отмечается сильная вариабельность уровня продуктивности яровой мягкой пшеницы и решающую роль в получении устойчивой урожайности играет засухоустойчивость сортов. В этой связи главным направлением селекционной работы, проводимой в степной зоне Оренбургского Предуралья, остается повышение засухоустойчивости. Эффективная селекция по данному признаку невозможна без правильного подбора родительских форм для гибридизации и детальной оценки исходного гибридного селекционного материала.

Существуют многочисленные методы, которые позволяют судить об отдельных механизмах засухоустойчивости. Это, прежде всего методики оценки различных показателей водного режима, которые свидетельствуют о способности растений с помощью физиологических приспособлений противостоять условиям дефицита водообеспеченности и высокого температурного режима. Одним из таких значимых показателей является водоудерживающая способность [Кожушко, 1988].

Водоудерживающая способность – важнейший интегральный физиологический показатель водного режима и функционального состояния растений, тесно связанный с метаболизмом. Она в значительной мере отражает адаптивный метаболизм и определяет устойчивость растений, позволяя им противостоять обезвоживанию, т. е. при увеличении водного стресса относительно слабо снижать оводненность тканей.

Несмотря на то, что норма реакции параметров водного режима очень широка, повышение водоудерживающей способности в ходе обезвоживания не беспредельно: на первой приспособительной фазе водоудерживающая способность повышается, на второй – снижается. Снижение водоудержания является признаком и теплового повреждения.

Следует отметить в виду того, что в полевых условиях сортов пшеницы меньше колебания количества наиболее связанной воды в дневном ритме. Кроме, того сравнивать по признаку водоудержания следует те сорта, у которых корневая система развита примерно одинаково, поскольку если сорт обладает мощной и активной корневой системой, хорошо обеспечивающей его водой в условиях засухи он не будет испытывать необходимости в ее удержании. При засухе водоудерживающая способность, как правило, повышается. У более устойчивых сортов этот механизм адаптации работает дольше по сравнению с незасухоустойчивыми.

Признак широко используется для диагностических целей, а за рубежом рекомен-

дуются для селекции в условиях умеренной засухи, поскольку имеет положительную, хотя и невысокую связь с продуктивностью. Этот показатель оказался эффективным при изучении засухоустойчивости образцов яровой пшеницы из коллекции ВИР в условиях Среднего Поволжья [Кожушко, 1976; Удовенко, 1995].

Устойчивость растений к повреждающему действию засухи и других факторов в разных климатических зонах в значительной мере определяется скоростью их обезвоживания [Петин, 1959; Гриненко, 1961; Сказкин, 1971].

Для оценки современных сортов яровой мягкой пшеницы степного волжского экотипа на устойчивость к засухе были проведены исследования водоудерживающей способности (ВУС) листьев в условиях степи Оренбургского Предуралья. Её определяли методом завядания срезанных листьев. Водоудерживающая способность может быть охарактеризована как по количеству потерянной воды, так и по содержанию оставшейся после завядания воды.

Для жизнедеятельности растений важнее содержание оставшейся в тканях и клетках воды. Поэтому в данной работе ВУС оценивалась количеством сохранившейся в клетках воды при завядании в течение 4 часов (табл. 1). Объектами экспериментов были сорта яровой мягкой пшеницы саратовской селекции: Альбидум 188, Л-503, Прохоровка, Саратовская 42, Саратовская 66 и оренбургской селекции: Варяг, Логачевка, Оренбургская 13, Учитель. А также исследовались 2 перспективные селекционные линии местной селекции.

Таблица 1

**Водоудерживающая способность листьев разных групп сортов яровой мягкой пшеницы в степной зоне Оренбургского Предуралья**

Происхождение сортов	Год опыта	Содержание оставшейся воды, %				
		до опыта	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч
<b>Фаза выхода в трубку</b>						
Саратовской селекции	2001	74,3	66,4	57,5	49,7	43,1
	2002	71,2	63,6	54,8	47,1	40,8
	2003	79,5	70,4	61,1	52,2	43,4
Оренбургской селекции	2001	73,4	64,7	55,4	47,7	41,0
	2002	70,2	61,9	53,1	45,7	39,3
	2003	79,1	71,0	62,4	54,3	46,7
<b>Фаза колошения</b>						
Саратовской селекции	2001	67,2	57,7	48,4	40,6	33,6
	2002	66,1	59,9	53,0	46,6	41,3
	2003	70,2	57,7	47,7	42,0	37,3
Оренбургской селекции	2001	66,8	57,3	49,8	44,0	38,0
	2002	67,5	60,2	52,5	46,0	38,5
	2003	70,8	58,1	48,1	41,7	36,6

Рассматривая ВУС листьев по фазам развития, следует отметить, что чем старше по возрасту растения, тем выше величина ВУС. В критические периоды развития пшеницы (фазы выхода в трубку и колошения) у сортов саратовской селекции наблюдается большая водоудерживающая способность листьев в сравнении с сортами оренбургской селекции. Из исследованных сортов в фазу выхода в трубку высокая ВУС отмечена у Прохоровки, Варяга и Логачевки. В фазу колошения этот параметр был выше у сортов Логачевка, Прохоровка, Саратовская 42, Учитель и гибридной линии 1. Учитывая полученные результаты можно сделать вывод, что выделенные сорта обладают высокой

устойчивостью к дефициту влаги и высоким температурам.

Наряду с определением ВУС листьев была проведена полевая оценка засухоустойчивости (табл. 2). Засухоустойчивость сложна в своих проявлениях, что делает изучение селекционного материала в полевых условиях по данному признаку довольно трудоемким. Известно, что растения злаков наиболее чувствительны к воздействию дефицита влаги и высоких температур в период от выхода в трубку до колошения. Степень устойчивости в данных опытах определяли по 9 бальной шкале согласно Методических указаний ВИР за 1999 год.

В засушливый 2001 год сорта Саратовская 42, Оренбургская 13 и Учитель имели высокую степень устойчивости (7 баллов), а у остальных сортов отмечена средняя степень засухоустойчивости (5-6 баллов). В средnezасушливый 2002 год, когда засуха проявилась наиболее остро в июле, самыми засухоустойчивыми из сортов мягкой пшеницы были Варяг, Л-503 и Прохоровка - 7 баллов. В 2003 году в первой половине вегетации пшеницы наблюдались благоприятные условия развития, засушливые условия оказали сильное воздействие в период формирования и налива зерна. В этих условиях у всех изученных сортов отмечена средняя степень устойчивости. Полученные результаты согласуются с опытами по изучению ВУС листьев. Сортам с высокой водоудерживающей способностью, как правило, характерна, и высокая полевая устойчивость к засухе.

**Таблица 2**

**Засухоустойчивость современных сортов и гибридных линий яровой мягкой пшеницы в степной зоне Оренбургского Предуралья**

№ п/п	Сорт, линия	Засухоустойчивость, балл			Средняя по годам
		2001	2002	2003	
1	Саратовская 42	7	6	6	6,3
2	Оренбургская 13	7	6	6	6,3
3	Л-503	6	7	5	6,0
4	Учитель	7	6	5	6,0
5	Логачевка	6	-	5	5,5
6	Прохоровка	6	7	5	6,0
7	Варяг	6	7	4,5	5,8
8	Саратовская 66	5	5	5	5,0
9	Альбидум 188	6	6	4,5	5,5
10	Линия 1 Альбидум F <sub>14</sub> (Оренбургская 6 x Альбидум 28-26)	6	6	4,5	5,5
11	Линия 2 Альбидум F <sub>14</sub> [F <sub>1</sub> (Лютеценс 648 x Оренбургская 7) Оренбургская 6]	5	5	4,5	4,8

Опыты показали, что сорта степной волжской экологической группы имеют высокую устойчивость к засушливым условиям. Выделившиеся сорта яровой мягкой пшеницы можно использовать в качестве родительских форм. Это позволит получать более устойчивый к засухе гибридный селекционный материал.



## Литература

Гриненко В.В. Изменение водного режима как приспособительная реакция растений //Водный режим растений в засушливых районах СССР. - М.: Изд-во АН СССР, 1961. - С. 210-223.

Удовенко Г.В. Устойчивость растений к абиотическим стрессам //Физиологические основы селекции растений /ВИР.- С.-Петербург, 1995. - Т. 2; Ч. II. – С. 293-352.

Кожушко Н.Н. Оценка засухоустойчивости полевых культур //Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: (Методическое руководство). – Л.:ВИР. 1988. – С. 10-25.

Кожушко Н.Н. Вододерживающая способность как показатель засухоустойчивости растений //Тр. по прикл. бот., ген. и сел.- Л., 1976.- Т. 57; Вып. 2. - С. 59

Петин Н.С. Физиология орошаемой пшеницы. - М.: Изд-во АН СССР, 1959. – 554 с.

Сказкин Ф.Д. Критический период у растений по отношению к недостатку воды в почве. - Л., 1971. – 156 с.

## ДЕЙСТВИЕ НАТУРАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА ЛИНАРОЗИД НА ФОТОСИНТЕЗ И ПИГМЕНТЫ ПЛОДНОНОСЯЩИХ РАСТЕНИЙ АБРИКОСА

Н.В. Титова, Г.В. Шишкану, Р.Б. Малина, Н.Е. Машченко

Институт Генетики и Физиологии Растений АН Молдовы, Кишинев, nvtmd@mail.ru

Поиск биорегуляторов натурального происхождения, повышающих урожайность и устойчивость растений в неблагоприятных условиях среды, является одной из важнейших задач исследований в физиологии растений. Ранее нами была выявлена высокая отзывчивость подвойных сеянцев и привитых растений персика и абрикоса на действие ряда растактивирующих соединений стероидного типа, полученных из растений родов *Trigonella*, *Capsicum* и *Melongena* в Институте Генетики АН Молдовы. Продолжается отбор биологически активных соединений природного происхождения, которые в малых концентрациях способны активизировать рост и продуктивность растений. К таким веществам относится линарозид, выделенный из растения *Linaria vulgaris* Mill [Mashcenco et al.,2008].

Исследования проводили в контролируемых условиях лизиметров Института с четырехлетними, вступившими в плодоношение, растениями абрикоса сорта Костюженский (подвой MVA). Во время интенсивного роста (май) опытные растения опрыскивали 0,01% водным раствором линарозида и контрольные – водой. Через 10-15 дней после обработки и в течение вегетации изучали функционирование фотосинтетического аппарата с помощью прибора РТМ – 48А фирмы Bioinstruments S.R.L.[Балаур и др.,2009] и состояние пигментного фонда [Шлык,1977] исследуемых растений. Статистическую обработку данных проводили с применением критерия Стьюдента, результаты достоверны при 0,05% уровне значимости.

Выявлена высокая отзывчивость начинающих плодоносить растений абрикоса в период активного роста и закладки плодов на действие препарата линарозид. Была найдена самая эффективная концентрация этого вещества. По интенсивности ассимиляции углекислоты варианты располагались в таком убывающем порядке: линарозид 0,01% > линарозид 0,05% > линарозид 0,025% > контроль (табл.1).

Обработка растений 0,01% водным раствором линарозида значительно повышала интенсивность ассимиляции CO<sub>2</sub> и составляла в контроле 2,30 и варианте с линарозидом 5,79 мкмоль CO<sub>2</sub>·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. По дыханию и транспирации различия менее значительны,

но растения опытного варианта превышали контроль. Фотосинтез, дыхание и транспирация отражают изменения температуры, относительной влажности воздуха и освещённости. В конце июня и в июле, в наиболее засушливый период вегетации, различия между вариантами наиболее выражены.

Таблица 1

**Влияние линарозида на интенсивность фотосинтеза листьев абрикоса с. Костюженский, 6 июня 2011 г.**

Вариант	Контроль	Линарозид 0,01%	Линарозид 0,05%	Линарозид 0,025%
Интенсивность фотосинтеза, мкмоль $\text{CO}_2 \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$	2,30	5,79	2,47	2,22

За счет увеличения отношения фотосинтез / темновое дыхание в листе накапливается больше продуктов фотосинтеза, что в сочетании с усиленным оттоком их в черешки и затем в побеги обеспечивает более высокий урожай растений, обработанных препаратом линарозид. К примеру, в начале июня величина такого соотношения в контроле составила 1,32 и у растений с применением линарозида – 2,45(табл.2).

Таблица 2

**Изменение отношения фотосинтеза и темнового дыхания в листьях растений абрикоса с. Костюженский под влиянием линарозида, 2011 г.**

Дата /Вариант	6 июня	21 июня	14 июля
Контроль	1,32	3,68	3,79
Линарозид 0,01%	2,45	3,07	4,63

Это подтверждают данные по урожайности растений. Масса одного плода и урожай на одном растении абрикоса, обработанном линарозидом, превышали контроль соответственно на 7% и 20%.

Состояние пигментного фонда является важнейшим фактором в реализации фотосинтетической функции растения и служит индикатором реакции растения на экзогенное воздействие. Выявлены особенности накопления хлорофиллов и каротиноидов в листьях плодоносящих растений абрикоса при обработке препаратом линарозид (табл.3).

Таблица 3

**Влияние линарозида на содержание пигментов в листьях растений абрикоса с. Костюженский ( $\text{мг} \cdot \text{дм}^{-2}$ )**

Вариант/ Показатели	Хлорофилл			Каротиноиды	Отношение	
	а	б	а + б		а/б	а+б/кар.
	9 июня					
Контроль	2,93	0,76	3,69	1,15	3,85	3,26
Линарозид	3,18	0,87	4,05	1,26	3,65	3,21
	1 июля					
Контроль	3,38	0,90	4,28	1,45	3,75	2,58
Линарозид	4,04	1,10	5,14	1,52	3,67	3,38
	19 июля					
Контроль	2,98	0,78	3,76	1,23	3,82	3,05
Линарозид	3,63	1,00	4,63	1,42	3,63	3,17

В июле, в период активного роста всех надземных органов, в особенности плодов, содержание хлорофиллов и каротиноидов у всех растений абрикоса возрастает на 10% в сравнении с июнем. Полученные данные показали значительный стимулирующий эффект линарозида в накоплении зеленых и желтых пигментов в листьях абрикоса. Через 10 дней после опрыскивания (9июня) количество всех пигментов возрастает на 9-10% по сравнению с контролем. В жаркий период в июле при высоком уровне атмосферной засухи действие линарозида становится более выраженным. Этому способствовала более высокая оводненность листьев опытных растений в засушливый период вегетации: влажность листьев абрикоса, опрыснутых линарозидом, была на 2-3 % выше в сравнении с контролем. Известно [Генкель,1982], что уменьшение содержания воды в листе даже на 0,9% может изменить баланс ауксины – ингибиторы в сторону ингибиторов. Судя по протекторной роли каротиноидов [Стржалка и др.,2003], повышение уровня каротиноидов под влиянием линарозида свидетельствует о защите фотосинтетического аппарата в засушливый период.

Проведенные исследования показали стимулирующее влияние натурального гликозида фенольного типа линарозид на фотосинтетическую активность, пигментный фонд листьев и урожайность молодых плодоносящих деревьев абрикоса. Использование обработки молодых растений абрикоса натуральным препаратом линарозид может быть рекомендовано как эффективный способ стимулирования фотосинтетической деятельности, способствующей более полной реализации потенциальной продуктивности.

#### Литература

Балаур Н.С., Воронцов В.А., Клейман Э.И., Тон Ю.Д. Новая технология покомпонентного мониторинга CO<sub>2</sub>-газообмена у растений.//Физиология растений, 2009.- Т.56, №3. – С. 486 – 470.

Генкель А. Жаро- и засухоустойчивость растений. - М.:Наука, 1982.-227 с.

Стржалка К., Костецкая-Гугала А., Латовски Д. Каротиноиды и стрессовые воздействия окружающей среды: роль модуляции физических свойств мембран каротиноидами. // Физиология растений, 2009.- Т.50, №2. – С.78-193.

Шлык А.А.Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев. // Биохимические методы в физиологии растений. М.:Наука,1977.- С.154 – 163.

Mashcenko Natalia, Kintia Pavel, Gurev Angela et.al. Glycosides from *Linaria vulgaris* Mill. //Chemistry J. of Moldova. 2008. -V.3, № 2. - P.98-100.

### **НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ АДАПТАЦИИ**

О.И. Трофимова, И.А. Ларская

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, trofimova@mail.knc.ru

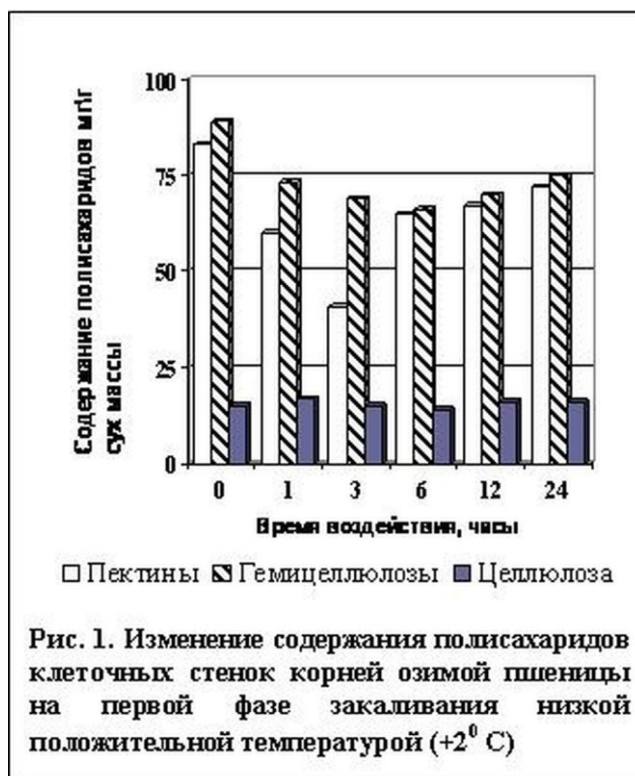
Исследование механизмов восприятия внешних сигналов и передачи информации внутрь клетки для реализации адаптивного ответа, до сих пор является актуальной задачей физиологии растений. Однако, хотя процесс формирования устойчивости к пониженным температурам достаточно хорошо охарактеризован [Thomashow, 2010], остается много непонятого о степени участия отдельных компонентов клетки в данном процессе. В частности недостаточно полно раскрыта роль клеточной стенки, которая наравне с плазматической мембраной является тем компартментом, через который происходит передача сигнала внутрь клетки.

Ранее было показано, что в процессе закаливания низкой положительной темпе-

ратурой, в корнях проростков озимой пшеницы происходит накопление олигосахарина - фрагмента клеточной стенки, обладающего способностью повышать морозоустойчивость озимых растений [Трофимова и др., 2009]. Проведенный анализ моносахаридного состава показал, что в процессе адаптации проростков основные изменения наблюдаются во фракции гемицеллюлоз, а выделенный олигосахарин представляет собой фрагмент ксилоглюкана клеточной стенки [Заботина и др., 1998].

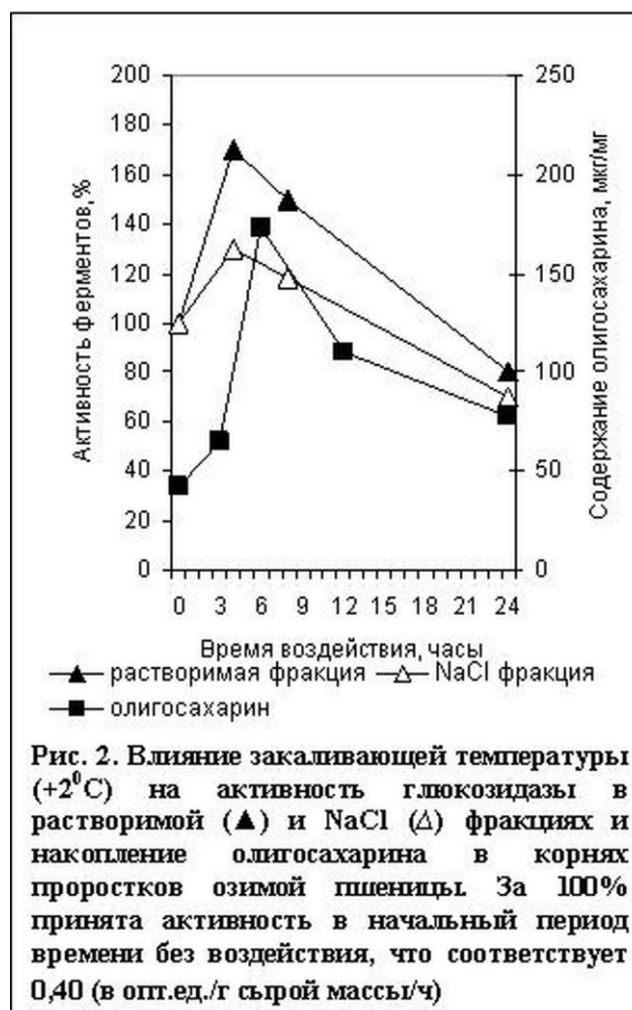
В данной работе исследовали изменение активности гидролитических ферментов и динамику содержания основных полисахаридов клеточной стенки корней проростков озимой пшеницы в процессе закаливания. Объектом исследований служили 5 дневные проростки озимой пшеницы Казанская 84. Активность ферментов оценивали в двух фракциях: растворимой и ионно-связанной и рассчитывали в наномолях 4-метилумбеллиферона на миллиграмм сырого веса в минуту. Определение содержания сахаров проводили антроновым методом.

Как видно из рис. 1 при помещении проростков в холодильную камеру при  $+2^{\circ}\text{C}$  содержание пектинов и гемицеллюлоз уменьшалось уже в течение первого часа и продолжало снижаться до 6 часа действия закаливающей температуры. Это снижение совпадало с активацией гликозидаз клеточной стенки. На рис. 2 представлены данные по изменению активности одного из ферментов -  $\beta$ -глюкозидазы, однако, в работе были исследован широкий ряд гидролаз клеточной стенки, включая галактозидазу, ксилозидазу, арабинозидазу, фукозидазу, и все исследуемые ферменты показывали однотипную реакцию на воздействие, а именно повышение активности на 3-4 час действия закаливающей температуры. Кроме того закаливающая температура вызывала повышение эндогенного содержания олигосахарина в корнях проростков озимой пшеницы, которое достигало максимума на 6 час адаптации. Следует отметить, что при нормальной температуре выращивания олигосахарин в тканях растений не обнаруживается.



Основываясь на данных, представленных в этой работе, можно заключить, что активация гликозидаз, как показатель усиления катаболических реакций при адаптации

вовлечена в процессы модификации полисахаридов клеточной стенки, что способствует не только обновлению этого компартмента в изменившихся условиях, но и появлению регуляторных молекул – олигосахаридов, участие которых в адаптивных реакциях растительного организма требует дополнительных исследований.



Полученные данные расширяют представление о роли гликозидаз клеточной стенки в растениях, которая ранее сводилась в основном к процессам, связанным с ростом или созреванием плодов и демонстрируют, что изменения, имеющие место в клеточной стенке, являются неотъемлемой частью всего комплекса реакций, запускаемых при низкотемпературной адаптации растений.

#### Литература

Заботина О.А., Аюпова Д.А., Ларская И.А., Николаева О.Г., Петровичева Г.А., Заботин А.И. Физиологически активные олигосахариды, накапливающиеся у проростков пшеницы в ходе низкотемпературной акклимации // Физиология растений, 1998. - № 2.- С. 262-267.

Трофимова О.И., Барышева Т.С., Торощина Т.Е., Ларская И.А., Заботин А.И. Исследование активности гликозидаз при адаптации разных сортов пшеницы и ржи // Материалы Всероссийской научной конференции «Устойчивость растений к неблагоприятным факторам внешней среды».- Иркутск, 2007.- С. 298-301.

Thomashow M.F. Molecular Basis of Plant Cold Acclimation: Insights Gained from Studying the CBF Cold Response Pathway // Plant Physiol., 2010. - V. 154.- P. 571-3 577.

## РОЛЬ ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЯХ РАСТЕНИЙ ТОМАТОВ К ГАЛЛОВОЙ НЕМАТОДЕ

Ж.В. Удалова<sup>1</sup>, Т.А. Ревина<sup>2</sup>, Н.Г. Герасимова<sup>2</sup>,  
С.В. Зиновьева<sup>1</sup>, Е.В. Иевлева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Центр паразитологии ИПЭЭ РАН, Москва, udalova.zh@rambler.ru

<sup>2</sup>Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва, gerasimovan48@mail.ru

Фитопатогены оказывают на организм растений многофакторное стрессовое воздействие, вызывающее специфические реакции клеток растений, в целом близкие с ответами на абиотические стрессовые факторы. Биогенный стресс, вызванный фитонематодами, характеризуется рядом особенностей, которые связаны с их высоким паразитическим потенциалом, особенно это проявляется у седентарных нематод. Они не заинтересованы в гибели растения-хозяина и индуцируют образование в тканях растений особых питающих клеток. В ответ на проникновение патогенов растение включает сложную биохимическую систему защиты. В растении активируются различные сигнальные системы в зависимости от характера стрессового воздействия и разновидности патогена. При этом каждому типу патогена присуща своя система взаимодействующих путей передачи сигналов. Ключевой молекулой системной сигнализации при стрессах различного генеза, является жасмоновая кислота (ЖК). ЖК и её производные являются конечными продуктами липоксигеназной сигнальной системы, через активирование протеинкиназ они активируют экспрессию защитных генов [Farmer Ryan, 1990]. ЖК и метиловый эфир ЖК индуцируют образование стрессовых белков - ингибиторов протеиназ (ИП) в обработанных листьях томата, табака и некоторых других растениях. Показано, что жасмонаты являются обязательными компонентами на пути экспрессии ИП генов при поранении [по Bolter 1993]. В дальнейшем, при исследовании механизмов устойчивости томатов был выделен короткий пептид - ситемин, обладающий сигнальной функцией, который в ответ на поранение или проникновение патогенов инициировал образование фитоалексинов и ИП. Показано, что контроль за биосинтезом ситемина, с последующим образованием ИП осуществляет ЖК. Однако последовательность реакций, протекающих в ответ на стрессовое воздействие, пока не установлена. Возможно, что ситемин, образующийся на участке поранения, переносится в отдаленные ткани растения, где он активирует октадеканойдный путь, биосинтез ЖК и последующую экспрессию ИП; или же, ситемин индуцирует на участке поранения образование ЖК, которая, в свою очередь, функционирует как мобильный сигнал для экспрессии ИП в отдаленных тканях растения [по Васюкова, Озерецковская, 2008]. Из выше сказанного следует, что жасмонатный путь играет важную роль в защитных ответах при поранении и инвазии патогенами; ситемин и ЖК являются основными компонентами мобильного дистанционного раневого сигнала в томатах, а также поранение и ситемин активируют экспрессию ИП через общий сигнальный путь, который требует наличия ЖК [по Васюкова, Озерецковская, 2008].

В нашем исследовании был проведен анализ влияния экзогенной ЖК на индуцирование ИП в растениях томатов с разной степенью устойчивости к седентарной галловой нематоде.

Материалы и методы. Для исследований были взяты растения томатов восприимчивого и устойчивого к *Meloidogyne incognita* гибридов F1 Гамаюн и Шаганэ. Семена томата перед высадкой в грунт обрабатывали раствором ЖК. Повторную обработку проводили перед заражением растений. Томаты выращивали и заражали нематодой по стандартной методике [Удалова, 2002]. Анализ корневой системы томатов и анализ нематод проводили на 24 сут. после заражения растений. Биохимический анализ тканей

на активность ИП проводили на 14 сут. после заражения. Способность полученных экстрактов подавлять активность трипсина оценивали путем определения амидазной активности данного фермента, используя в качестве субстрата бензоил-аргинин-пара-нитроанилид (БАПА). Активность ингибиторов, выражали в ингибиторных единицах (и.ед.), за единицу которой принимали такое количество белка-ингибитора, которое вызывает снижение оптической плотности опытного раствора (определение остаточной активности трипсина) на 0.1 при длине волны 410 нм.

**Результаты и их обсуждение.** Исследования влияния обработки ЖК восприимчивого к галловой нематоды гибрида томата Гамаюн показывают, что растения в меньшей степени заражаются паразитом (Табл. 1). Число галлов на 1 г корня в обработанных растениях снизилось на 31%. Самки нематод в обработанных растениях развивались медленнее, об этом можно было судить по их размерам и плодовитости. Самки в обработанных растениях были мельче контрольных на 19%, среднее число яиц в оотеках самок сократилось в 1,6 раза.

**Таблица 1**

**Влияние обработки ЖК на развитие растений томатов и галловой нематоды**

Вариант	Вес стебля, г	Число галлов/1г корня	Число яиц в оотеке	Размер самок, мм <sup>2</sup>
ЖК	27,6	523	59	0,272
Контроль (зараженный)	15,5	759	95	0,336
Контроль (здоровый)	20,3	-	-	-
НСР (P=0,05)	3,78	186	6,37	0,023

Анализ изменений активности ИП в листьях растений томата, показал, что она зависит от сортовой принадлежности. В восприимчивом к галловой нематоды гибриде Гамаюн активность была в 2,7 раза ниже по сравнению с устойчивым к данному паразиту гибридом. Заражение приводило к некоторому увеличению активности ИП (на 17% в восприимчивом гибриде и на 19 % в устойчивом). Обработка растений ЖК существенно повышала активность ИП, особенно сильно это проявлялось в восприимчивом гибриде (в 1,8 и 1,67 раза в здоровых и зараженных растениях, соответственно). Тогда как в устойчивых томатах сильного нарастания активности не наблюдалось (на 17 и 21 % в здоровых и зараженных растениях, соответственно).

В корнях томатов в активности ИП наблюдалась такая же тенденция, как и в листьях. В устойчивых к нематоды растениях активность была выше, чем в восприимчивых (табл. 2). Заражение приводило к усилению активности ИП. Любопытно, что в корнях растений обоих гибридов при обработке ЖК наблюдалась общая тенденция к снижению уровня активности ИП, особенно в восприимчивом гибриде, по сравнению с необработанными растениями.

Активность ИП в различных органах растений различается, а также зависит от возраста растений. Из данных таблицы 2 видно, что активность ИП в листьях молодых растений была выше, чем в корнях. Поскольку растениям чаще приходится иметь дело с наземными паразитическими организмами, активность ИП в листьях выше, к тому же эти органы осуществляют основную синтетическую нагрузку. Хотя с возрастом активность ИП в корнях томатов увеличивалась, а в листьях снижалась [Удалова и др., 2012]. Из таблицы 2 видно, что при заражении томатов галловой нематодой, паразитирующей на корнях, увеличение активности в этом органе происходит в большей степени, чем в наземных органах.

Таблица 2

**Активность ингибиторов трипсина в экстрактах  
листьев и корней томата, зараженных галловой нематодой**

		Необработанные		Обработанные ЖК	
		и.ед./мл	%	и.ед./мл	%
<b>листья</b>					
Гибрид Гамаюн (S)	Здоровые	2,3±0,05	100	4,2±0,09	180
	Зараженные	2,7±0,04	115	4,5±0,09	195
Гибрид Шаганэ (R)	Здоровые	6,3 ± 0,1	100	7,4 ± 0,3	117
	Зараженные	7,5 ± 0,3	115	9,1 ± 0,5	144
<b>корни</b>					
Гибрид Гамаюн (S)	Здоровые	0,85±0,02	100	0,40±0,02	47
	Зараженные	1,05±0,04	123	1,16±0,05	137
Гибрид Шаганэ (R)	Здоровые	1,53±0,03	100	0,67±0,03	44
	Зараженные	2,30±0,07	150	1,52±0,06	99

Таким образом, устойчивый гибрид здоровых растений томатов изначально имел более высокую по сравнению с восприимчивым гибридом ингибиторную активность, как в листьях, так и в корнях. Ингибиторная активность возрастала в корнях и листьях устойчивого и восприимчивого гибридов при заражении растений галловой нематодой. Обработка томатов ЖК позволяет снизить зараженность растений томатов. Показано, что в здоровых, и в зараженных галловой нематодой растениях обработка ЖК приводит к значительному увеличению уровня активности ИП в листьях здоровых и зараженных растений, и в некоторой степени в зараженных корнях. Вероятно, экзогенное воздействие ЖК в растениях томата влияет на экспрессию стрессовых белков - ИП, уровень и активность которых играет существенную роль в устойчивости к галловой нематоды.

*Работа поддержана грантом РФФИ.*

#### Литература

Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л. Жасмонат-зависимая защитная сигнализация в тканях растений. // Прикл. биох. и микробиол. 2009, Т56, №5, С.643-653.

Удалова Ж.В. Сравнительный анализ действия фураностаноловых гликозидов на взаимоотношения в различных системах растения-фитонематоды. //Тр. Ин-та паразитологии РАН, 2002, Т.43, С.267-277

Удалова Ж.В., Ревина Т.А., Герасимова Н.Г.и др. Исследование трипсин-ингибиторной активности томатов, заражённых галловой нематодой //В сб. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями», Москва, 2012, вып.13, С.424-426.

Bolter C. Methyl jasmonate induces papain inhibitor in tomato leaves// Plant Physiol., 1993, V.103, P.1347-1353.

Farmer E.E., Ryan C.A. Interplant communication. Airborne methyl jasmonate induces syntheses of proteinase inhibitors in plant leaves.// Proc Natl Acad Sci USA, 1990, V.87, P.7713-7716



## МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ РЕТРОГРАДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА HSP104 *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

И.В. Федосеева, Н.Н. Варакина, Т.М. Русалева, А.В. Федяева,  
Д.В. Пятрикас, А.В. Степанов, Е.Г. Рихванов

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, fedoseeva@sifibr.irk.ru

Белок теплового шока Hsp104 (heat shock protein) играет ключевую роль в развитии индуцированной термотолерантности в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [Parsell, Lindquist, 1993]. У растений важную роль аналогичную роль выполняет гомологичный белок Hsp101 [Queitsch et al., 2000].

Ранее было показано, что нарушение функций митохондрий в результате обработки митохондриальными ингибиторами и разобщителями подавляло тепловую индукцию синтеза Hsp104 *S. cerevisiae* и ингибировало развитие индуцированной термотолерантности [Rikhvanov et al., 2005]. Синтез Hsp104 в клетках *S. cerevisiae* в отсутствие теплового стресса увеличивается при переходе в стационарную фазу роста [Parsell, Lindquist, 1993]. Поэтому целью настоящей работы явилось изучение роли митохондрий в индукции синтеза Hsp104 при переходе клеток дрожжей в стационарную фазу роста.

### Материалы и методы

В работе использовали штамм родительского типа *Saccharomyces cerevisiae* W303-1B (*Mata ade2 his3 trp1 leu2 ura3*) и изогенный ему *petite*-мутант. Выращивание дрожжей, определение термотолерантности, SDS-электрофорез и иммуноблоттинг с антителами проводили согласно ранее опубликованным методикам [Rikhvanov et al., 2005].

### Результаты и обсуждение

В результате утраты митохондриальной ДНК у дрожжей образуются дыхательно-недостаточные *petite*-мутанты. Такие мутанты получают энергию в результате гликолиза при росте на сбраживаемых источниках углерода (глюкоза), однако не могут расти на средах, содержащих спирт, из-за нарушения функционирования дыхательной цепи. Сравнение термотолерантности штаммов родительского типа и *petite*-мутанта показало, что в логарифмической фазе роста устойчивость к тепловому шоку 45 °С (0-60 мин) и 50 °С (0-8 мин) была выше у *petite*-мутанта (рис. 1). Увеличение термотолерантности, как правило, сопровождается повышением конститутивного уровня Hsp104. Однако сравнение базового уровня синтеза этого белка при 30 °С не выявило различий между родительским типом и *petite*-мутантом (рис. 2б) в этих условиях. Таким образом, повышение термотолерантности *petite*-мутанта в логарифмической фазе роста не связано с индукцией синтеза Hsp104. Увеличение устойчивости к тепловому шоку может быть связано с тем, что в клетках *petite*-мутанта в логарифмической фазе низкий уровень генерации активных форм кислорода (АФК) при тепловом шоке по сравнению с клетками штамма родительского типа.

В стационарной фазе в клетках штамма родительского типа наблюдалось увеличение конститутивного синтеза Hsp104 (рис. 2б), что сопровождалось повышением устойчивости к тепловому шоку, по сравнению с логарифмической фазой роста (рис. 1). Сравнение термотолерантности родительского типа и *petite*-мутанта в стационарной фазе дало совершенно противоположную картину, чем в логарифмической фазе роста. Клетки *petite*-мутанта оказались менее устойчивы к тепловому шоку как при 45 °С (0-120 мин), так и при 50 °С (0-20 мин) (рис. 1). Сравнение уровня конститутивного синтеза Hsp104 показало, что при переходе в стационарную фазу роста у *petite*-мутанта содержание Hsp104 увеличивается незначительно (рис. 2б). Таким образом, наблюдается

зависимость между уровнем синтеза Hsp104 и термотолерантностью клеток дрожжей в стационарной фазе. В клетках штамма родительского типа увеличивается конститутивный уровень синтеза Hsp104, в результате чего развивается термотолерантность. У *petite*-мутанта Hsp104 синтезируется в гораздо меньшей степени, поэтому устойчивость к тепловому шоку не развивается.

Интересно отметить, что наблюдается обратная зависимость между содержанием Hsp104 и уровнем генерации АФК в клетках родительского штамма. В логарифмической фазе синтеза Hsp104 не наблюдается (рис. 2б), и продукция АФК при тепловом шоке усиливается (данные не представлены). В стационарной фазе содержание Hsp104 возрастает (рис. 2б), и генерация АФК снижается (данные не представлены).

Противоположная картина в стационарной фазе наблюдалась для клеток *petite*-мутанта. Увеличения содержания Hsp104 не происходит (рис. 2б), а уровень генерации АФК *petite*-мутанта увеличивается по сравнению с клетками штамма родительского типа (данные не представлены).

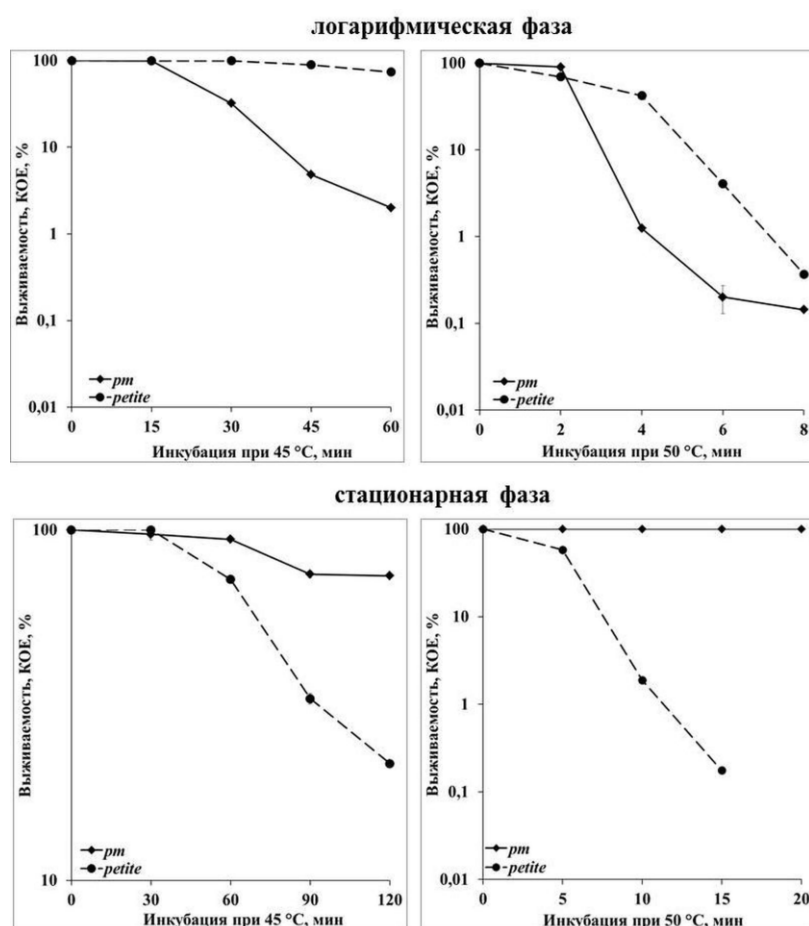


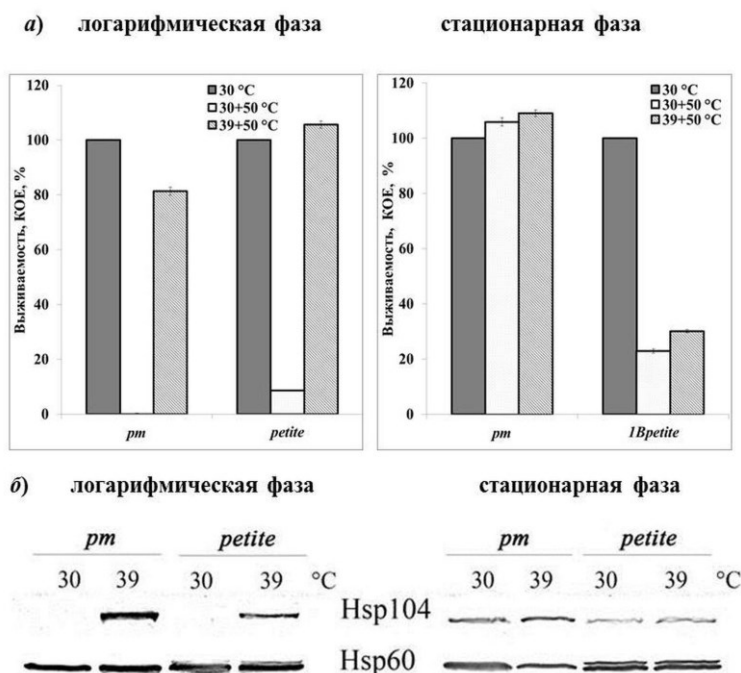
Рис. 1. Термотолерантность родительского типа (*pt*) штамма *S. cerevisiae* W303-1В и изогенного ему *petite* мутанта при 45 и 50 °С.

Дрожжи выращивали на среде YEPD при 30 °С в течение 4-6 ч (логарифмическая фаза) или в течение 24 ч (стационарная фаза) и инкубировали при 45 °С (0-60 мин, логарифмическая фаза; 0-120 мин, стационарная фаза) или 50 °С (0-8 мин, логарифмическая фаза; 0-20 мин, стационарная фаза).

В логарифмической фазе повышение температуры инкубации до 39 °С (30 мин) индуцировало синтез Hsp104 в штамме родительского типа, что сопровождалось развитием индуцированной термотолерантности (рис. 2а). В клетках *petite*-мутанта индукция синтеза Hsp104 в условиях мягкого теплового стресса (39 °С, 30 мин) также происходи-

ла (рис. 2б), но содержание белка было ниже, чем в дыхательно-компетентных клетках родительского типа. Однако снижение содержания Hsp104 в клетках *petite*-мутанта не препятствовало развитию индуцированной термотолерантности (рис. 2а).

В стационарной фазе в клетках штамма родительского типа наблюдался высокий конститутивный синтез Hsp104 обработка при 39 °С (30 мин) не приводила к дополнительному увеличению уровня этого белка. Поэтому в стационарной фазе в клетках штамма родительского типа не было различий между базовой и индуцированной термотолерантностью (рис. 2). В клетках *petite*-мутанта также не наблюдалось увеличения содержания Hsp104 при тепловом стрессе, и отсутствовала значительная разница между базовой и индуцированной термотолерантностью (рис. 2).



**Рис. 2. Развитие индуцированной термотолерантности (а) и синтез Hsp104 (б) родительского типа (*pm*) штамма *S. cerevisiae* W303-1В и изогенного ему *petite* мутанта в логарифмической и стационарной фазах роста.**

Ранее нами было показано, что нарушение функций митохондрий в результате обработки митохондриальными ингибиторами и разобщителями подавляло тепловую индукцию синтеза Hsp104 *S. cerevisiae* и ингибировало развитие индуцированной термотолерантности [Rikhvanov et al., 2005]. Полученные результаты показывают, что нарушение митохондриальных функций в результате мутации *petite* примерно в два раза подавляет повышение содержание Hsp104 при тепловом стрессе в логарифмической фазе роста и значительно подавляет индукции синтеза этого белка при переходе в стационарную фазу (рис. 2б).

#### Литература

- Parsell D.A, Lindquist S. The function of heat-shock proteins in stress tolerance: Degradation and reactivation of damaged proteins // Annu.Rev.Genet, 1993. - V.27. - P.437-496.
- Queitsch C., Hong S.W., Vierling E., Lindquist S. Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in Arabidopsis // Plant Cell, 2000. – V.12, №4. – P. 479-492.
- Rikhvanov E.G., Varakina N.N., Rusaleva T.M., Rachenko E.I., Knorre D.A., Voinikov V.K. Do mitochondria regulate the heat-shock response in *Saccharomyces cerevisiae*? // Curr. Genetics, 2005. – V.48. – P. 44-59.

## ПОВЫШЕНИЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА И УВЕЛИЧЕНИЕ ПРОДУКЦИИ АФК В КЛЕТКАХ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ТЕПЛОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

А.В. Федяева<sup>1</sup>, А.В. Степанов<sup>1</sup>, И.В. Любушкина<sup>1,2</sup>,  
Т.П. Побежимова<sup>1</sup>, Е.Г. Рихванов<sup>1</sup>, В.К. Войников<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, fedyaeva.anna@mail.ru

<sup>2</sup>Иркутский государственный университет, Иркутск, estel\_86@mail.ru

Одной из причин гибели растительной клетки при тепловом воздействии является увеличение продукции активных форм (АФК) [Vacca et al., 2006]. В автотрофной культуре главным источником АФК являются хлоропласты, а у нефотосинтезирующих клеток растений – митохондрии [Møller, 2001]. Причины генерации АФК при тепловом шоке в клетках растений недостаточно изучены. С использованием изолированных митохондрий показано, что увеличение потенциала на внутренней мембране митохондрий (мтΔψ) приводит к повышению продукции АФК [Korshunov et al., 1998]. Известно, что АФК являются своего рода посредниками в передаче сигнала в клетке. Чрезмерное накопление АФК может приводить к гибели клетки [Skulachev, 1998]. Была показана связь между повышением мтΔψ и усилением продукции АФК [Pozniakovsky et al., 2005], но связь между этими явлениями при тепловом воздействии не изучалась.

Целью настоящей работы было изучить действие повышенных температур на изменения продукции АФК и потенциала на внутренней митохондриальной мембране в клетках суспензионной культуры озимой пшеницы.

В работе использовалась гетеротрофная суспензионная культура озимой пшеницы *Triticum aestivum* (L.). Культуру клеток подвергали действию повышенных температур различной интенсивности: 37, 42, 45, 50, 55, 60 °С в течение 10 и 30 мин. Изменение мтΔψ определяли с использованием рациометрического катионного флуоресцентного красителя JC-1. Изменение уровня АФК определяли с использованием восстановленного производного флуоресцеина H<sub>2</sub>DCF-DA. Жизнеспособность клеток определяли сразу и через 48 часов после воздействия повышенных температур с помощью окрашивания флуоресцентными красителями (FDA и PI). В работе использовался инвертированный флуоресцентный микроскоп AxioObserverZ1 (Германия) с цифровой монохромной камерой AxioCamMRm3 и пакетом программного обеспечения для захвата и анализа изображений “AxioVisionRel.4.6”.

Показано, что повышение температуры воздействия от 37 до 50 °С приводило к увеличению мтΔψ как при 10-минутной, так и при 30-минутной обработке (Рис. 1). При этом наибольшее увеличение потенциала наблюдалось после воздействия температуры 50 °С в течение 10-минут. Обработка клеток более высокими температурами (55 и 60 °С) не приводила к увеличению мтΔψ (Рис. 1).

Изучение содержания АФК в клетках суспензионной культуры озимой пшеницы показало, что при повышении температуры воздействия от 37 до 50 °С увеличение продукции АФК происходило при 42, 45 и 50 °С как при 10 минутной, так и при 30 минутной обработке. При этом наибольшая продукция АФК наблюдалась при действии температуры 45 °С в течение 30 мин (Рис.2). Следует отметить, что дальнейшее повышение температуры до 55 °С и выше не вызывало увеличения содержания АФК в клетках культуры озимой пшеницы (Рис. 2).

Так как при действии температур 45 и 50 °С наблюдалось увеличение потенциала на внутренней митохондриальной мембране и повышение содержания АФК, то можно предположить, что изменения, наблюдавшиеся в данных процессах, взаимосвязаны. Рисунок 3 наглядно иллюстрирует, что при воздействии температурами 45 и 50 °С в те-

чение 30 минут повышение потенциала на внутренней митохондриальной мембране сопровождается увеличением содержания АФК в клетках (Рис. 3). Коэффициент корреляции между этими двумя процессами составлял 0,89.

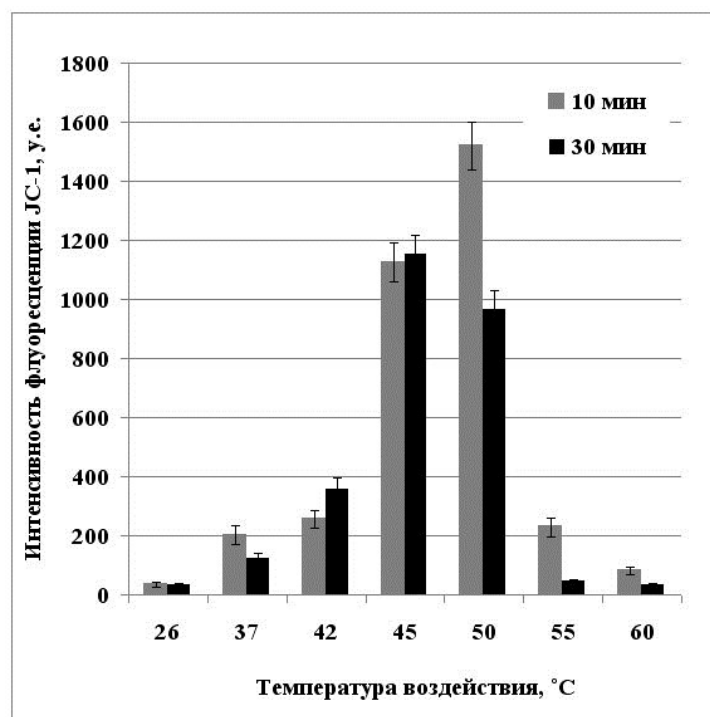


Рис. 1. Влияние тепловой обработки на изменение электрохимического трансмембранного потенциала на внутренней митохондриальной мембране клеток суспензионной культуры озимой пшеницы. Время воздействия - 10 и 30 минут.  $n=3$ .  $M \pm S.D.$

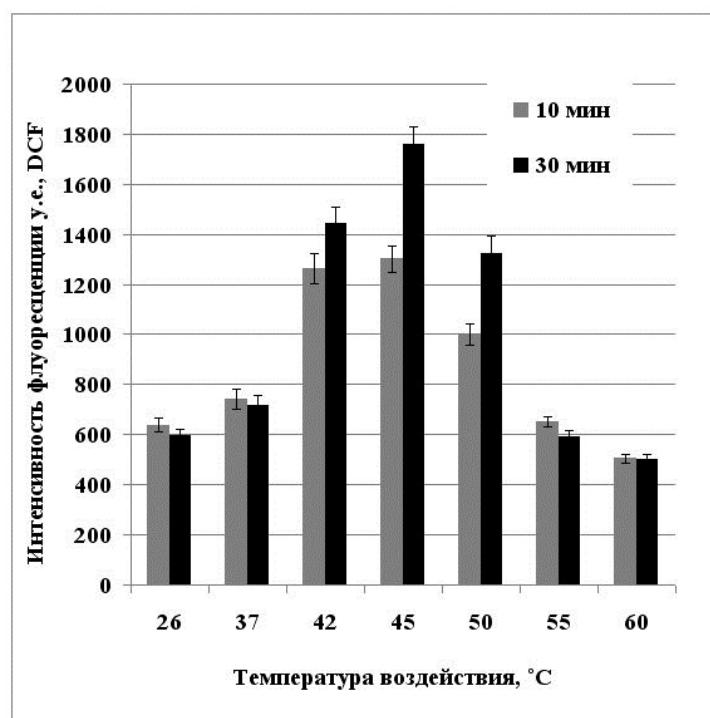
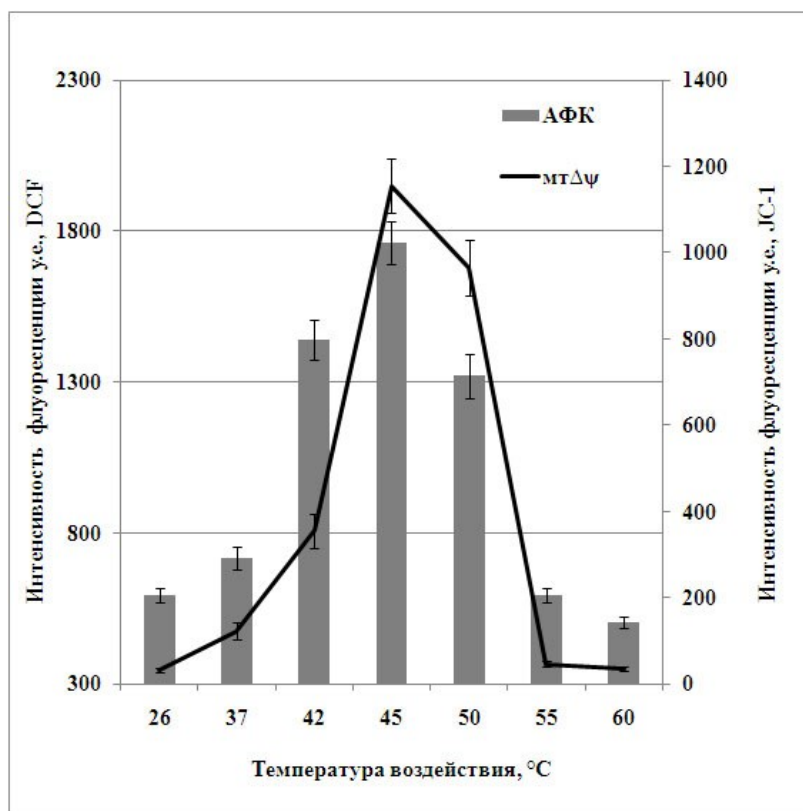


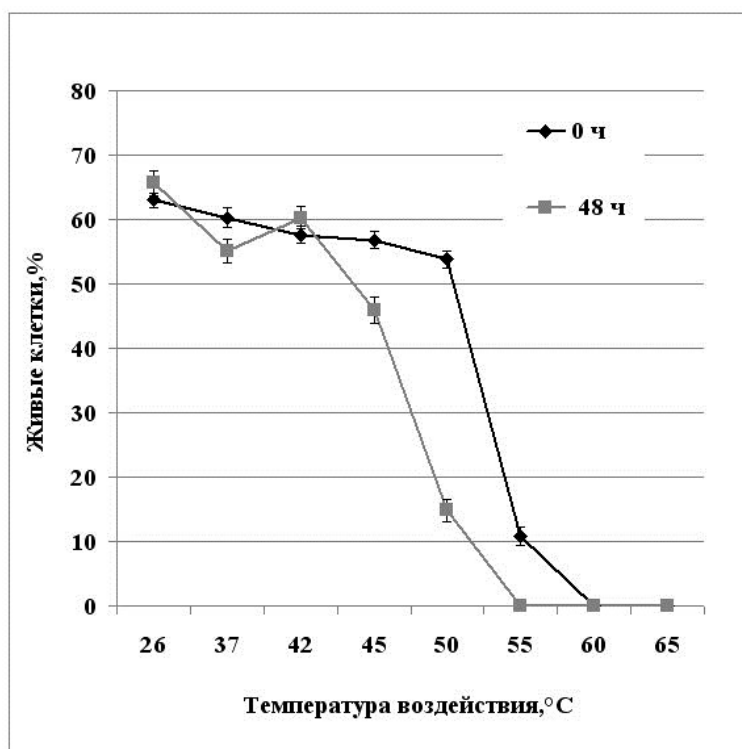
Рис. 2. Влияние тепловой обработки на содержание активных форм кислорода в клетках суспензионной культуры озимой пшеницы. Время воздействия - 10 и 30 минут.  $n=3$ .  $M \pm S.D.$



**Рис. 3. Корреляция между mtΔψ и АФК при 30-минутном тепловом воздействии.**  
**Обозначения:** АФК – активные формы кислорода; mtΔψ – потенциал на внутренней мембране митохондрий. n=3. M±S.D.

Чрезмерное накопление АФК в клетках может приводить к их гибели. В связи с этим, были проведены исследования по изучению жизнеспособности клеток суспензионной культуры озимой пшеницы после действия повышенных температур в течение 10 минут. Поскольку развитие гибели может протекать во времени, и клетки могут погибать как сразу после стрессового воздействия, так и через некоторое время, была изучена жизнеспособность непосредственно после действия и через 48 часов инкубации в контрольных условиях (26°C). Жизнеспособность определяли методом двойного окрашивания (FDA и PI). Живыми считали клетки, окрашенные красителем FDA в зеленый цвет, а мертвыми, окрашенные PI в красный цвет и неокрашенные клетки. Выявлено, что тепловое воздействие при 60 и 65 °C приводило к мгновенной гибели клеток. Температуры 37, 42, 45 °C не вызывали значительной гибели клеток в культуре озимой пшеницы ни сразу после воздействия, ни через 48 ч при инкубации в контрольных условиях (Рис. 4). Следует отметить, что так называемый отсроченный процесс гибели клеток в культуре наблюдался только после действия температуры 50 °C. Так, непосредственно после воздействия температурой 50 °C гибели клеток в культуре не наблюдалось, а через 48 ч после обработки погибало около 40% клеток (Рис. 4).

Таким образом, краткосрочные тепловые воздействия (10-30 мин) промежуточной интенсивности (37-50°C) вызывают гиперполяризацию внутренней митохондриальной мембраны и повышение продукции АФК в клетках суспензионной культуры озимой пшеницы. Зависимость действия гипертермии на поляризацию внутренней митохондриальной мембраны и продукцию АФК может указывать на взаимосвязь этих двух явлений в клетке. При жесткой тепловой обработке 60°C и выше клетки погибают непосредственно в момент воздействия, при более мягких тепловых воздействиях гибель клеток отсрочена и развивается во времени.



**Рис. 4.** Жизнеспособность клеток культуры озимой пшеницы после действия повышенных температур в течение 10 минут. Жизнеспособность определяли с помощью двойного окрашивания FDA и PI. n=3. M±S.D.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 8266.*

#### Литература

Скулачев В.П. О биохимических механизмах эволюции и роли кислорода // Биохимия, 1998. -Т.63, №11. - С. 1570-1579.

Korshunov S.S., Korkina O.V., Ruuge E.K., Skulachev V.P., Starkov AA. Fatty acids as natural uncouplers preventing generation of  $O_2^-$  and  $H_2O_2$  by mitochondria in the resting state // FEBS Letters, 1998. - V.435. - P. 215-218.

Møller I.M. Plant mitochondria and oxidative: Electron transport, Nadph turnover, and metabolism of reactive oxygen species // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 2001. - V.52. - P. 561-591.

Pozniakovsky A.I., Knorre D.A., Markova O.V., Hyman A.A., Skulachev V.P., Severin F.F. Role of mitochondria in the pheromone- and amiodarone-induced programmed death of yeast // J. Cell Biol., 2005. – V.2. - P. 257-269.

Vacca R.A., Valenti D., Bobba A., Merafina R.S., Passarella S., Marra E. Cytochrome *c* is released in a reactive oxygen species-dependent manner and is degraded via caspase-like proteases in tobacco Bright-Yellow 2 cells en route to heat shock-induced cell death // Plant Physiol., 2006. - V.141. - P. 208-219.

## ОТВЕТЫ ГЕНА МАЛИК-ЭНЗИМА (TaNADP-ME2) ПШЕНИЦЫ НА СТРЕССОВЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

Л.П. Хохлова, Д.Р. Хусаинова

Казанский федеральный университет, Казань, Ludmila.Khokhlova@ksu.ru

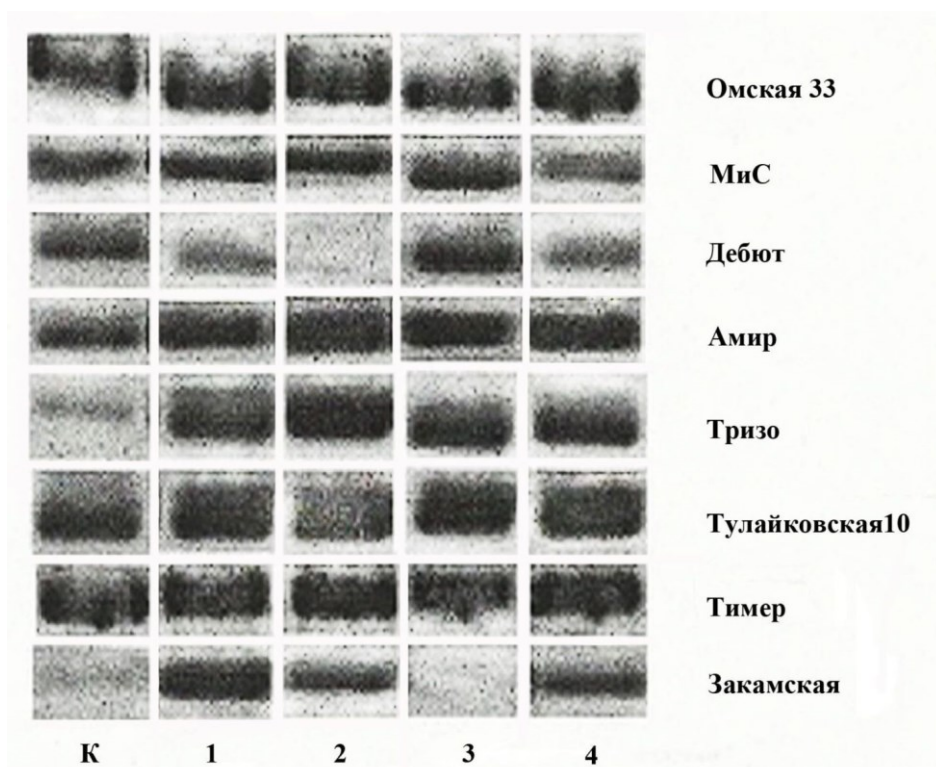
Общим свойством всех живых организмов на действие неблагоприятных факторов окружающей среды является экспрессия стресс-зависимых генов и синтез белков, активность которых направлена на защиту клеток и поддержание гомеостаза. Изучение экспрессии таких генов при отдельном и совместном влиянии на растения различных стрессоров позволяет понять природу генной регуляции защитно-приспособительных механизмов, формирующихся в клетках в природных условиях. Так, комбинация засухи и повышенных температур оказывает более губительный эффект на рост и продуктивность растений, чем каждый по-отдельности [Savin, Nikolas, 1996]. В то же время существует множество данных о кросс-адаптации растений. К стресс-зависимым генам следует отнести, по-видимому, и гены малик-энзимов (ME), катализирующих окислительное декарбоксилирование L-малата, образуя пируват, CO<sub>2</sub> и НАД(Ф)Н в присутствии бивалентных катионов [Chang, Tong, 2003]. У растений этот класс энзимов в соответствии с их физиологической ролью подразделяется на фотосинтетические и нефотосинтетические [Honda et al., 2000]. Фотосинтетические НАДФ-ME присутствуют в хлоропластах клеток обкладки сосудистых пучков у C<sub>4</sub>-растений и в цитозоле растений с САМ метаболизмом. Продукты генов этих ферментов кукурузы уменьшали проводимость замыкающих клеток устьиц, увеличивали эффективность использования воды в клетках трансгенного табака и повышали устойчивость растений к засухе [Laporte et al., 2002]. Нефотосинтетические НАДФ-ME найдены в пластидах и цитозоле разных видов растений. Их изоформы выполняют множество функций – регулируют осмотическое давление в замыкающих клетках, движение устьиц, поддержание цитозольного рН и ионного баланса, синтез жирных и органических кислот, созревание плодов и др. [Destarsio et al., 2008; Shao et al., 2009]. Важная роль фотосинтетических (TaNADP-ME1) и нефотосинтетических (TaNADP-ME2) малик-энзимов в ответах растений пшеницы на различные стрессорные факторы подтверждается результатами по регуляции экспрессии их генов при действии экзогенных гормонов (АБК и салициловой кислоты), засоления, низких температур и засухи [Ku et al., 1991; Liu et al., 2007].

Почти полное отсутствие сведений о генотипически детерминированной регуляции экспрессии генов малик-энзимов при различном сочетании стресс-факторов явилось основанием для проведения наших исследований по обнаружению экспрессии гена TaNADP-ME2 у отличающихся по теплоустойчивости сортов пшеницы при разных режимах температурного и водного стрессов. опыты проводили на листьях 7-суточных проростков восьми сортов яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Теплоустойчивость растений оценивали по термостабильности мембран, которую характеризовали температурой порогового повреждения мембран (ТППМ), величиной угла наклона термограмм и коэффициентом повреждаемости мембран. ТППМ соответствовала резкому (фазному) повышению проницаемости мембран на термограммах после 5-минутного прогрева листьев при нарастающем действии повышенных температур в диапазоне 49°C-56°C [Валиулина и др., 2009]. Проведённый таким образом качественный и количественный анализ термостабильности мембран позволил ранжировать все сорта по теплоустойчивости на три группы: Омская 33 и МиС – высокоустойчивые (ТППМ – 55°C), Дебют, Амир, Тризо, Тулайковская 10 – среднеустойчивые (ТППМ – 54°C), Тимер и Закамская – низкоустойчивые (ТППМ – 52°C). Растения выращивали в течение 7 суток в горшочках с почвой при 22°-23°C, фотопериод – 10 ч, влажность воз-



духа – 35%, освещённость – 50кЛк (контрольный вариант). Затем растения подвергали тепловому стрессу и засухе при различных режимах (опытные варианты): 1 – тепловой шок (ТШ, 38°C – 30 мин, 40°C – 30 мин, 42°C – 2 ч); 2 – преадаптация (45°C – 15 мин, 23°C – 2 ч) и ТШ; 3 – засуха и ТШ (засуху создавали путём прекращения полива 5-суточных проростков в течение двух суток); 4 – засуха, преадаптация и ТШ.

Экспрессию гена TaNADP-ME2 изучали методом обратнo-транскриптазной ПЦР. Выделение РНК проводили методом TRIzol, на основе РНК синтезировали кДНК с помощью специального набора (“Roche”, Германия) в процессе ОТ-ПЦР. Затем получали амплификаты кДНК, используя специфические праймеры, подобранные для TaNADP-ME2 по программе Vector NTI. Реакцию проводили в амплификаторе “Thermocycler 3000” (“Biometra”, Германия). Олигонуклеотиды были синтезированы в компании “Invitrogen” (Германия). Реакционную смесь использовали для электрофоретического разделения амплификатов кДНК в агарозном геле, которые визуализировали в УФ-трансиллюминаторе (“Serva”, Германия) при длине волны 254 нм и фотографировали CCD камерой “Nikon” (Япония) при той же длине волны. Размер амплификатов кДНК TaNADP-ME2 составлял 1624 п.н. В качестве маркера молекулярных фрагментов использовали фрагменты ДНК New England Biolabs<sup>tm</sup> 1kb-100bp DNA Ladder (“New England Biolabs”, США). Экспрессию гена оценивали полуколичественно по ширине и интенсивности полос амплификатов.



**Рис.** Электрофореграммы транскриптов гена TaNADP-ME2 в листьях разных сортов пшеницы: К – контроль (23°C); 1 - тепловой шок, ТШ (38°C – 30 мин, 40°C – 30 мин, 42°C – 2 ч); 2 – преадаптация (45°C – 15 мин, 23°C – 2ч) и ТШ; 3 – засуха и ТШ; 4 – засуха, преадаптация и ТШ.

Из рисунка видно, что активность гена TaNADP-ME2 проявлялась у растений всех восьми сортов пшеницы в контрольном варианте, однако, у сортов Тризо и Закамская выявлен слабый сигнал. Стойкая активность гена во всех вариантах стрессорных воздействий (1 – 4) сохранялась у растений Омской 33, МиС, Амира, Тулайковской и Тимера. Экспрессия гена отсутствовала у сорта Дебют при преадаптации и действии

теплового шока (вариант 2) и слабо проявлялась в варианте 4. Отсюда можно заключить, что преадаптация проростков к гипертермии приводила к выключению транскрипции гена у этих растений на фоне теплового шока и снижала экспрессию гена при засухе и тепловом шоке. В условиях «жесткого» режима (засуха и ТШ, 3 вариант) ген не экспрессировался только у сорта Закамская. Поскольку нефотосинтетические малик-энзимы играют важную роль в физиологии растительной клетки и их сверхэкспрессия коррелирует с повышением устойчивости растений к ряду стрессоров, то их постоянное присутствие необходимо растениям как в норме, так и при неблагоприятных условиях. В связи с этим можно предположить, что отсутствие экспрессии гена TaNADP-ME2 указывает на нарушение механизмов регуляции клеточной активности. Отмеченное в наших опытах слабое проявление сигналов и даже их отсутствие в ряде вариантов, главным образом, у средне- и низкоустойчивых сортов является одним из показателей сортоспецифической реакции гена этого фермента на действие засухи и повышенных температур.

#### Литература

Валиуллина Р.Н., Рябовол В.В., Хохлова Л.П. Мембранные механизмы устойчивости разных сортов яровой пшеницы к повышенным температурам / Материалы Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы сельскохозяйственной науки и практики в современных условиях и пути их решения». – Казань, 2009. – С. 69-73.

Chang G.G., Tong L. Structure and function of malic enzymes, a new class of oxidative decarboxylases // *Biochemistry*, 2003. V.42. P. 12721-12733.

Destarsio E., Maurino V.G., Alvarez C.E. Maize cytosolic NADP-malic enzyme (ZmCytNADP-ME): a phylogenetically distant isoform specifically expressed in embryo and emerging roots // *Plant Mol. Biol.*, 2008. V.68. P. 355-367.

Honda H., Akagi H., Shimada H. An isozyme of the NADP-malic enzyme of a CAM plant, *Aloe arborescence*, with variation on conservative amino acid residues // *Gene*, 2000. V.243. P. 85-92.

Ku M.S.B., Wu J., Dai Z., Scott R.A. Photosynthetic and photorespiratory characteristics of *Flaveria* species // *Plant physiol.*, 1991. V. 96. P. 518-528.

Laporte M.M., Shen B., Tarczynski M.C. Engineering for drought avoidance: expression of maize NADP-malic enzyme in tobacco results in altered stomatal function // *J. Exp. Bot.*, 2002. V.53. P. 699-705.

Liu S.X., Cheng Y., Zhang Y. Expression of an NADP-malic enzyme gene in rice (*Oryza sativa* L.) is induced by environmental stresses: over-expression of the gene in *Arabidopsis* confers salt and osmotic stress tolerance // *Plant Mol. Biol.*, 2007. V.64. P. 49-58.

Savin R., Nicolas M.E. Effects of short periods of drought and high temperature on grain growth and starch accumulation of two malting barley cultivars // *Aust. J. Plant Physiol.*, 1996. V.23. P. 201-210.

Shao H.B., Shao M.A., Jaleel C.A. Understanding water deficit stress-induced changes in basic metabolisms of higher plants for biotechnologically improving agriculture and ecoenvironment in arid regions // *Crit. Rev. Biotech.*, 2009. – V.29 – P. 363-392.

## ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ ЖИВУЧКИ ПОЛЗУЧЕЙ: МОДИФИКАЦИЯ ПИГМЕНТ-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ПРИ АДАПТАЦИИ К УСЛОВИЯМ ПРОИЗРАСТАНИЯ

М.С. Христин<sup>1</sup>, О.В. Дымова<sup>2</sup>, Т.К. Головко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Московская обл., khristin\_@rambler.ru

<sup>2</sup>Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, dymovao@ib.komisc.ru

Фенотипическая пластичность – фундаментальное явление, отражающее способность одного и того же генотипа формировать множество фенотипов, более приспособленных к существованию в определенных условиях среды. Для растений как автотрофных организмов особое значение среди факторов среды имеет свет. Растения используют свет для осуществления фотосинтеза и как важный сигнал для регуляции процессов жизнедеятельности в соответствии с изменениями среды. Под влиянием света изменяются функциональные и морфологические свойства растений, что сказывается на их жизненной стратегии. Растения воспринимают световые сигналы благодаря пигментам, которые поглощают свет определенной длины волны, и с участием молекулярно-генетических механизмов формируют ответную реакцию. В какой мере в этом процессе задействован фотосинтетический аппарат до сих пор до конца не ясно.

Удобной моделью для изучения фотосинтетической адаптации высших цветковых растений к световым условиям может служить живучка ползучая (*Ajuga reptans* L.) – вегетативно подвижный травянистый поликарпик с монокарпическими полурозеточными побегами. Европейский вид, распространен в широколиственных лесах, как реликт неморального флористического комплекса встречается в подзоне средней тайги. Ранее нами [Дымова, Головко, 1998, 2007; Golovko, Dumova, 1999] были выявлены изменения анатомо-морфологических и физиолого-биохимических параметров листьев живучки при адаптации к световому режиму при трансплантации из леса на открытую делянку. По сравнению с теневыми растениями (Т-растения), обитающими под пологом леса при освещенности 5-10% от полной солнечной, у световых растений (С-растения) вдвое повышалась удельная поверхностная плотность листьев, существенно снижались содержание азота в сухой биомассе, концентрация хлорофиллов (Хл) и соотношение Хл/каротиноиды. В пуле каротиноидов увеличивалась доля ксантофиллов, и на порядок возрастал уровень конверсии пигментов виолаксантинового цикла (ВКЦ), что свидетельствует об активации зеаксантинзависимого механизма фотопротекции фотосинтетического аппарата (ФСА). Хлоропласты С- и Т-растений не отличались по размеру, но число тилакоидов в гранах хлоропластов С-растений было вдвое больше.

Целью данной работы было выявить, в какой мере формирование светового и теневого типов растений связано с модификацией пигмент-белковых комплексов (ПБК), участвующих в световых реакциях фотосинтеза.

Для анализа ПБК отбирали одинаковые по размерам зрелые листья летней генерации растений, произрастающих под пологом леса и имеющим темно-зеленую окраску, и на незатененном, имеющим светло-зеленую окраску листьев. Выделяли хлоропласты и экстрагировали из них ПБК с помощью 0.1% -ного додецилмальтозида (ДМ) и 0.1% дезоксихолата (ДХ) в 0.1 М фосфатном буфере, рН 7.5. Разделение экстракта на ПБК ФС I, ФС II и ССК II проводили методом Дерифат-электрофореза в полиакриламидном геле [Peter, Thornberg, 1991]. ПБК в листьях и выделенных из них хлоропластах изучали также методом низкотемпературной (77К) флуоресценции, используя спектрофлуориметр Hitachi-850 (Япония), стеклянный сосуд Дьюара, в котором фиксировали верхнюю часть листа, либо вносили 50-100 мкл суспензии хлоропластов. Все определения проводили в 3-кратной биологической повторности.

Для успешного решения поставленной задачи было необходимо сначала решить проблему выделения хлоропластов, активных по реакции Хилла. При работе по стандартным методикам полученные препараты были мутными и имели низкую фотохимическую активность. Поэтому использовали многоступенчатую отмывку хлоропластов с добавлением 0.05% ДХ в буферную смесь. ДХ применяли также при экстракции ПБК с помощью ДМ. Полученные препараты имели высокую фотохимическую активность по реакции Хилла и из них было возможно получить препараты ПБК, которые достаточно хорошо разделялись на отдельные фракции в Дерифат-ПААГ электрофорезе.

В спектре низкотемпературной флуоресценции хлоропластов при возбуждении 435 нм (поглощение Хл *a*) выявлялись 3 максимума: при 685 нм (ПБК СР43), 695 нм (ПБК СР46) и 735 нм (ФС I). Такие же максимумы были выявлены и в спектре низкотемпературной флуоресценции листьев. Это свидетельствует об эффективности модифицированного способа получения нативных хлоропластов. Не обнаружили существенных отличий в спектрах флуоресценции листьев световых и теневых растений, визуально отличающихся по окраске. Однако возбуждение при 476 нм (поглощение Хл *b*) позволило выявить различия в низкотемпературных спектрах флуоресценции между исследуемыми световыми фенотипами растений. В спектре С-растений наблюдали максимум при 710 нм, принадлежащий тримерной форме ССК II. В спектре Т-растений он не обнаруживался. Максимумы спектров Т-растений при 685, 695 нм и 735 нм имели меньшие величины, чем у С-растений. Соотношение F735/F685 характеризует уровень агрегации. Более высокое значение ( $F735/F685 = 6.2$ ) показано для хлоропластов С-растений. Это свидетельствует о высокой агрегации ПБК и преимущественном переносе энергии от ССК II на ФС I.

Результаты Дерифат-ПААГ электрофореза смеси ПБК показали, что все зоны в геле имели зеленую окраску, так как содержали Хл *a* (ПБК ФС I и ФС II), либо Хл *a+b* (мономер, тример ССК II). На старте гелей С-растениям соответствовала более интенсивная окраска по сравнению с Т-растениями. В состав этой зоны включены агрегированные ПБК ФС II. Большая интенсивность агрегатов у С-растений может указывать на более высокую агрегацию ФС II в результате более интенсивного фотоокислительного стресса в хлоропластах растений светового типа. Более выраженная интенсивность полосы ССК II у С-растений согласуется с наличием максимума флуоресценции при 710 нм (тример ССК II). Образование тримерной формы ССК II, как показано [Wentworth et al., 2004] является более эффективной защитой от фотоокислительного стресса, поскольку в тримере происходит нефотосинтетическое тушение энергии.

Чтобы модулировать содержание Хл в С-растениях использовали подкормку органическими удобрениями. В результате повышения уровня обеспеченности азотом листья С-растений приобретали темно-зеленую окраску, что свидетельствует об увеличении содержания Хл, а следовательно формировании новых ПБК. Такую же картину наблюдали, если растения, сформировавшие листья светового типа, затеняли. Подкормка органическим удобрением стимулировала рост этих растений, а Т-растения после высадки на незатененный и удобренный участок длительное время сохраняли свою прежнюю темно-зеленую окраску.

Итак, выделение и анализ ПБК листьев растений живучки ползучей позволили выявить тонкие структурно-функциональные различия их организации. Листья С-растений содержат меньше хлорофиллов, но образуют больше тримерных форм ССК II и агрегатов ПБК ФС II. Эффекты изменения окраски листьев от светло-зеленой в темно-зеленую (и наоборот) встречаются в природе и агротехнической практике. Живучка широко используется в ландшафтном озеленении. Для получения декоративных растений с темной окраской листьев на открытых участках необходимо улучшить их обеспеченность азотом и водой. Это согласуется с результатами наших исследований, кото-

рые показывают роль модификации ПБК листьев живучки к световым условиям произрастания. При недостатке азота и влаги на полном солнечном свете фотоокислительный стресс преобладает над восстановлением ПБК, что приводит к деструкции ПБК вплоть до отмирания листьев. Влага и азот содержатся в большем количестве под пологом леса, что позволяет живучке адаптироваться к затенению, синтезируя дополнительные ПБК. Полученные результаты дополняют наши представления о молекулярных механизмах фенотипической пластичности растений при адаптации к свету и имеют важное значение для прогнозирования поведения видов в условиях ожидаемых глобальных изменений климата.

#### Литература

Дымова О.В., Головки Т.К. Адаптация к свету фотосинтетического аппарата теневыносливых растений (на примере *Ajuga reptans* L.) // Физиология растений, 1998. – Т.45, № 4. – С.521-528.

Дымова О.В., Головки Т.К. Состояние пигментного аппарата растений живучки ползучей в связи с адаптацией к световым условиям произрастания // Физиология растений, 2007. – Т.54, №1. – С.47-53.

Golovko T.K., Dymova O.V. Ecophysiology of *Ajuga reptans* L. at the northern boundary of its distribution // Handbook of Plant and Crop Stress / Ed. M.Pessarakli. New-York et.al.: Marcel Dekker, Inc, 1999. – P.963-972.

Peter G., Thornberg P. Electrophoretic procedures for fractionation of Photosystems I and II pigment-proteins of higher plant and for determination of their subunit composition // J Biol. Chem., 1991. – V. 266 (5). – P. 16745-16754

Wentworth M., Ruban A.V., Horton P. The functional significance of the monomeric and trimeric states of the photosystem II light harvesting complex // Biochemistry, 2004. – V. 43. – P. 501–509.

### ГЕРБИЦИД "РАУДАП" И ГЛИФОСАТ - ЭФФЕКТОРЫ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ВЫСШЕГО ГРИБА

О.М. Цивилева<sup>1</sup>, И.М. Учаева<sup>2</sup>, М.П. Чернышова<sup>1</sup>, О.Е. Макаров<sup>1</sup>, А.Н. Панкратов<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, tsivileva@ibppm.sgu.ru

<sup>2</sup>Саратовский государственный технический университет им. Гагарина Ю.А., Саратов

<sup>3</sup>Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

Синтетические фосфорорганические соединения - продукты многотоннажных химических производств, имеющие разнообразные области практического применения.

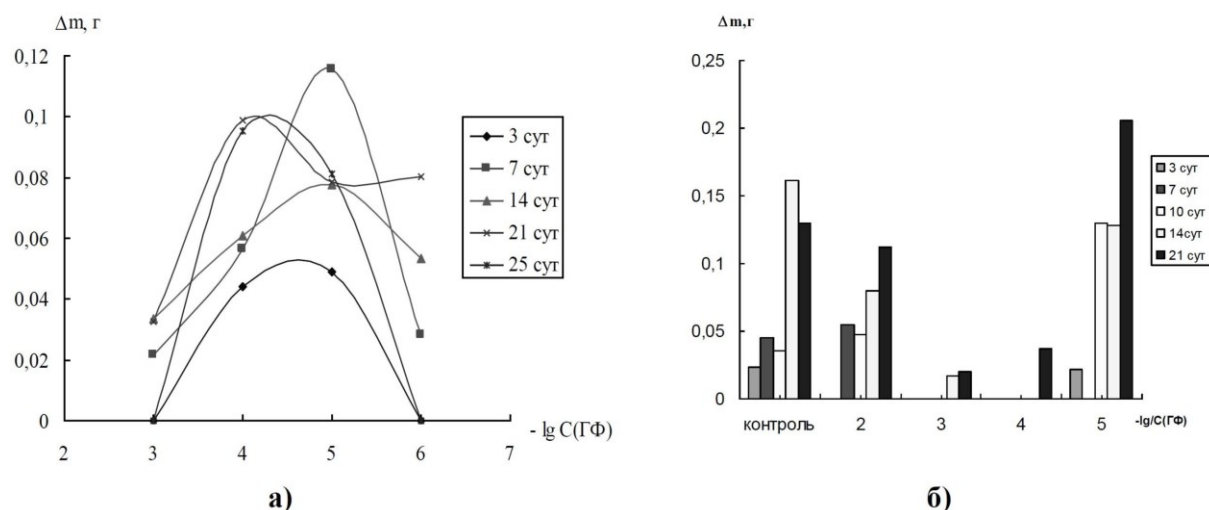
Гербицид "Раундап" широко используется в сельском, лесном и водном хозяйстве. Молекула активного компонента "Раундапа" - глифосата (N-фосфонометилглицина) - содержит связи С-Р и С-N, которые могут быть расщеплены ферментативными системами микроорганизмов и растений. Кроме мажорного действующего начала, представленного в виде изопропиламинной соли глифосата (360 г/л), коммерческий препарат содержит поверхностно-активное вещество (180 г/л) и ряд других компонентов, вызывающих долгосрочные неблагоприятные экологические последствия, особенно для водных организмов. В отношении здоровья человека отрицательные эффекты этого гербицида выражаются в раздражающем воздействии на глаза и кожные покровы; развитии пневмонии, желудочно-кишечных, сердечно-сосудистых и других видов недомогания разной степени тяжести, особенно при ненамеренном несоблюдении правил применения препарата.

Для разложения фосфонатов наряду с растениями и бактериями предположительно можно использовать грибы, которые обладают мощным ферментативным аппаратом, позволяющим представителям этого царства живых организмов трансформировать устойчивые соединения в биодоступные формы. Однако в литературе имеются весьма ограниченные данные о влиянии глифосата лишь на плесневые грибы в лесной почве и подстилке [Stratton & Stewart, 1992]. Важно изучение биопотенциала таких высших грибов, как *Lentinula edodes* (шиитакэ), при выращивании в присутствии указанных фосфонатов, поскольку этот ксилотрофный базидиомицет сочетает активную ферментативную систему с доступностью культивирования в искусственных условиях и набором ценных качеств биотехнологического плана.

Влияние коммерческих препаратов глифосат и “Раундап” на ростовые показатели *L. edodes*, штамм F-249, в настоящей работе изучали, характеризуя накопление сухой массы мицелия гриба на жидких средах либо геометрический размер колоний гриба на плотных (агаризованных) средах в условиях присутствия указанных компонентов фосфонатной природы в составе питательного субстрата. Контрольные эксперименты проводили в отсутствие фосфонатных добавок.

При глубинном (жидкофазном) культивировании *L. edodes* использовали синтетические среды с источником углерода - *D*-глюкозой (концентрация 300 ммоль/л по углероду), источником азота - *L*-аспарагином (20 ммоль/л по азоту). В полученные жидкие и расплавленные агаризованные среды перед засевом культуры добавляли глифосат и “Раундап” для достижения концентрации фосфонатов в пересчете на глифосат  $1.0 \cdot 10^{-6}$ ,  $1.0 \cdot 10^{-5}$ ,  $1.0 \cdot 10^{-4}$ ,  $1.0 \cdot 10^{-3}$ ,  $1.0 \cdot 10^{-2}$  моль/л.

Зависимость увеличения биомассы от концентрации глифосата и “Раундапа” при различном времени глубинного культивирования (рис.) свидетельствует об устойчивой тенденции роста шиитакэ даже в присутствии фосфонатных ксенобиотиков в высокой с физиологической точки зрения концентрации. Так, величины абсолютного прироста сухой массы мицелия по отношению к “контролю” в единичных случаях близки к нулю, а кривые роста (рис., а) и значения в точках диаграмм (рис., б) в общем случае располагаются выше оси абсцисс.



**Рис. Зависимость прироста биомассы *Lentinula edodes* от отрицательного логарифма молярной концентрации при различном времени выращивания в присутствии: а) глифосата; б) “Раундапа”.**

При сравнении данных прироста биомассы под воздействием гербицида “Раундап” и индивидуального глифосата можно сделать вывод о том, что “Раундап” вызы-

вает усиленный рост мицелия гриба. Наибольший прирост биомассы наблюдался на 7-е, 14-е, 21-е сутки. В случае глифосата наилучшие условия роста достигаются в диапазоне значений концентрации от  $1.0 \cdot 10^{-5}$  до  $1.0 \cdot 10^{-4}$  моль/л, для “Раундапа” - при  $1.0 \cdot 10^{-5}$  и  $1.0 \cdot 10^{-2}$  моль/л. В течение 2-й и 3-й недель выращивания в присутствии “Раундапа” биомасса гриба практически в два раза больше, чем в опытах с глифосатом. Изучаемые ростовые характеристики в присутствии “Раундапа” при начальных и средних возрастах культуры соизмеримы с контрольными. После 21 сут происходит, по-видимому, адаптация культуры к изменившимся условиям выращивания, отчасти и биодegradация гербицида, сопровождающиеся увеличением биомассы.

Определена скорость роста мицелия *L. edodes* при его культивировании в течение 19 суток в присутствии “Раундапа” на агаризованных средах. Концентрация действующего вещества в пересчете на глифосат составляла  $1.0 \cdot 10^{-5}$ ,  $1.0 \cdot 10^{-4}$ ,  $1.0 \cdot 10^{-3}$ ,  $1.0 \cdot 10^{-2}$  моль/л.

Наибольшие величины отношения диаметра колоний гриба к возрасту культуры наблюдались в отсутствие добавки и составляли 8.0 мм/сут при 6 сут выращивания. В диапазоне значений концентрации глифосата от  $1.0 \cdot 10^{-5}$  до  $1.0 \cdot 10^{-3}$  моль/л колонии *L. edodes* растут со скоростью 4.3-6.5 мм/сут, близкой к контрольным величинам. Отрицательным эффектом в отношении развития вегетативного мицелия *L. edodes* явно обладала добавка “Раундапа” с концентрацией в пересчете на глифосат  $1.0 \cdot 10^{-2}$  моль/л. После двух суток выращивания наблюдается резкое снижение скорости роста колоний от 3.9 до 0.65 мм/сут при полном прекращении видимого мицелиального роста на 12-е сутки. Концентрация ксенобиотика выше  $1.0 \cdot 10^{-2}$  моль/л в питательной среде приводит к торможению роста *L. edodes* вследствие нарушения обменных процессов.

Таким образом, эффективность накопления биомассы культурой гриба шиитаке на фосфонатсодержащих субстратах, являясь необходимым условием потенциальной эффективности биодegradации глифосата, зависит от наличия минорных компонентов его смеси в составе коммерческого препарата для практического применения, от агрегатного состояния среды выращивания, от продолжительности культивирования.

Глифосат как активное начало гербицида “Раундап” - широко известный универсальный ингибитор биосинтеза триптофана. Название препарата “глифосат” зачастую употребляется в сочетании с эпитетом “великий”. Он ингибирует фермент EPSPS, необходимый для продукции ряда метаболитов. И если у растений более 30 % фиксируемого углерода проходит по этому биосинтетическому пути, то у млекопитающих этот путь вообще не обнаружен. Поэтому глифосат в разумных пределах безопасен для человека и животных. Следовательно, ингибирование биосинтеза триптофана у патогенных микроорганизмов создает предпосылки создания новых лекарственных препаратов антибиотического действия. Чрезвычайно широкий спектр активности глифосата имеет место прежде всего благодаря неспособности большинства растений быстро метаболизировать гербицид с дериватизацией до нетоксичной формы.

Актуально выяснить, проявляет ли метилфосфоновая кислота  $\text{CH}_3\text{PO}(\text{OH})_2$  биологическое действие, аналогичное наблюдаемому у глифосата  $\text{HOOCCH}_2\text{NHCH}_2\text{PO}(\text{OH})_2$  (ингибирование биосинтеза триптофана), в экспериментах с культурой базидиомицета *Lentinula edodes*.

Мы обнаружили способность *Lentinula edodes* к синтезу внеклеточного триптофана при глубинном способе выращивания мицелия. На синтетической среде, изначально не содержащей триптофана, концентрация этой эссенциальной аминокислоты в экстрацеллюлярной форме составляла до нескольких сот мг/л, при этом наблюдалась зависимость от возраста культуры.

Нами впервые показано, что метилфосфоновая кислота при концентрации от  $1.0 \cdot 10^{-6}$  до  $1.0 \cdot 10^{-3}$  моль/л полностью ингибирует биосинтез внеклеточного триптофана

у *Lentinula edodes*. И это интересный прецедент, не имеющий аналогов.

Ингибирование фермента EPSPS глифосатом основано на оккупации последним сайта связывания, предназначенного природой для фосфо-енолпирувата (субстрата EPSPS). Биомиметик глифосат изображает компонент интермедиатного состояния комплекса “фермент-субстрат”, причем настолько удачно, что находится на первом месте среди более чем 100 изученных на этот предмет его синтетических аналогов. Имеет ли значение прочность связи углерод-фосфор в молекулах двух вышеупомянутых соединений? Для обоснования сравнительной прочности связи С-Р в метилфосфоновой кислоте и глифосате нами на уровне теории B3LYP/6-311++G(3df,3pd) рассчитана электронная структура молекул. Для косвенных суждений о реакционной способности указанных соединений по атомно-связево-аддитивным схемам оценены некоторые QSAR-свойства ( $IgP$ , поляризуемость). Для детализации донорно-акцепторного взаимодействия в изученных молекулах нами проведен анализ натуральных связевых орбиталей (NBO-анализ).

Выявлена корреляция эффекта ингибирования биосинтеза триптофана в присутствии фосфонатов на примере базидиального гриба со сравнительной прочностью связи углерод-фосфор в молекулах метилфосфоновой кислоты и глифосата. Различная реакционная способность двух фосфоносоединений в ферментативной реакции отчасти связана, вероятно, с большей гидрофильностью глифосата (судя по  $IgP$ ), а также с более высокой поляризуемостью его молекулы.

#### Литература

Stratton G.W., Stewart K.E. Glyphosate Effects on Microbial Biomass in a Coniferous Forest Soil // Environ. Toxicol. and Water Quality, 1992. – Vol. 7, № 3. – P. 223-236.

### УЧАСТИЕ ЛЮТЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМОВ К НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ

В.А. Чепалов, А.А. Перк, В.Е. Софронова, К.А. Петров

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, cva74@mail.ru

Важная роль каротиноидов в адаптации растительных и животных организмов в настоящее время не вызывает сомнения [Карнаухов, 2000; Ладыгин, Ширшикова, 2006]. Каротиноиды выполняют не только функции светособирающей антенны в растениях, но и являются протекторами при стабилизации липидной фазы мембран, обладают провитаминными и антиоксидантными свойствами в животных организмах. В разные периоды жизненного цикла качественный и количественный состав желтых пигментов может существенно изменяться. Например, многие осенневегетирующие травянистые растения после скашивания или повреждения животными восстанавливают утраченные органы, но уровень каротиноидов в них при этом подвергается существенным колебаниям.

Целью настоящей работы являлось изучение особенностей изменения содержания индивидуальных каротиноидов в связи с проблемой адаптации травянистых растений и, связанных с ними растительоядных насекомых, к низкотемпературному стрессу. Объектами служили овес посевной (*Avena sativa* L.) разного срока сева (ранний, среднепоздний и поздний) и уборки (ранний, среднепоздний и поздний), а также гусеницы бабочки боярышницы (*Aporia crataegi* L.) в условиях Центральной Якутии.

Для выделения каротиноидов свежесобранные листья *A. sativa* или гусеницы *A. crataegi* экстрагировали 100 %-ным уксусом с добавлением солей  $Na_2SO_4$  и  $CaCO_3$ .



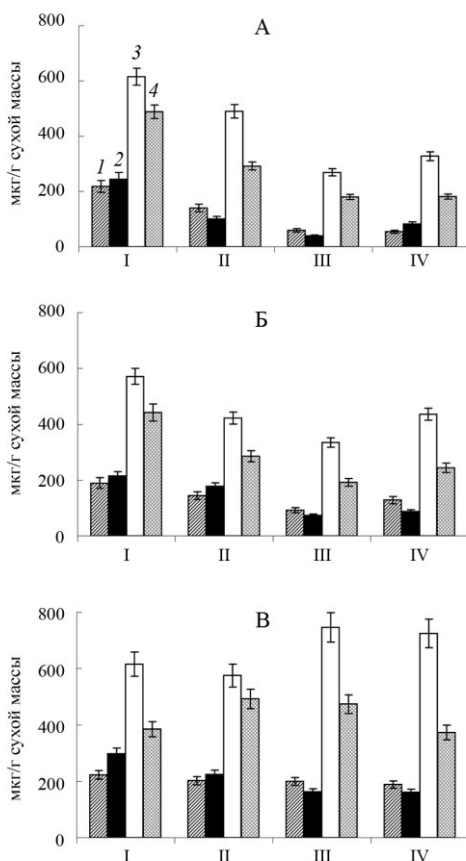
Экстракт центрифугировали при 2-4°C. Прозрачные центрифугаты объединяли и концентрировали под вакуумом при температуре 25°C. Для определения каротиноидов использовали метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) на силикагеле Sorbfil ПТСХ-АВ-В-УФ (Россия). Элюирующими растворителями служили: а) бензол-ацетон (7:3); б) этанол-бензол-ацетон-петролейный эфир (0,3:1:2:6,7). Индивидуальные пигменты элюировали этанолом (ксантофиллы) или хлороформом (каротин). Количественное содержание каждого из пигментов, выделенного методом ТСХ, рассчитывали по основным максимумам поглощения, используя удельные коэффициенты их экстинкций.

Наблюдала два хода изменения содержания суммы каротиноидов в зависимости от сроков посева и уборки овса в течение вегетации (рис. 1). Для 1-го и 2-го сроков сева при приближении осени содержание суммы каротиноидов ( $1566,8 \pm 28,0$  и  $1418,0 \pm 34,6$  мкг/г сухой массы соответственно) резко падало, а затем несколько увеличивалось. При этом максимум падения приходился на 3 укос ( $548,6 \pm 20,3$  и  $692,2 \pm 26,1$  мкг/г сухой массы соответственно), составляя только 35,0-48,8 % от суммы всех каротиноидов 1-го контрольного укоса. В дальнейшем он несколько повышался (до 43,2-63,2 %) для последней предзимней уборки. Для 3-го срока сева не отмечалось таких резких изменений в зависимости от сроков укосов – содержание сумм каротиноидов находилось в пределах 95,2-104,0 % относительно 1-й контрольной уборки. Динамика изменения ксантофиллов – кислородсодержащих каротиноидов, которые составляют в листьях овса 67,0-74,2 %, соответствовала общему ходу изменения сумм каротиноидов, но вклад отдельных групп пигментов при этом был различен. Наибольшим трансформациям подверглись виолаксантин и неоксантин, их содержание составило в 3-ю уборку только 16,0 % и 25,0 % от максимума (1 укос) соответственно. Далее следовал лютеин, у которого наблюдали как падение – до 43,8% (2-й укос), так и рост – до 117,8-121,2% (3-й и 4-й укосы) содержания от контрольных значений. Примерно схожим образом изменялся уровень  $\beta$ -каротина – он снижался для 2-го срока укоса до 36,8%, но для 2-го и 3-го укоса составлял уже 123,0-127,9% относительно контроля. Соотношения индивидуальных желтых пигментов при анализе их изменений внутри сроков посева могут характеризоваться следующим образом. Для 1 срока сева наблюдалось постепенное падение содержания неоксантина от 1-го к 4-му укосу с 13,9 до 8,4% от суммы каротиноидов. Относительное содержание лютеина, наоборот, постоянно росло с 39,3 до 50,7 %. Наиболее резкие изменения происходили с виолаксантином – с 1-го по 3-й укос его доля существенно падала от 15,6 до 7,1%, а к 4-му укосу вновь возрастала – до 12,7%. Третий срок сева позволял поддерживать на наиболее высоком и относительно постоянном уровне содержание как индивидуальных, так и суммы каротиноидов при всех укосах по сравнению с 1-м и 2-м сроками сева. Для последнего предзимнего укоса суммы каротиноидов 1-го и 2-го сроков сева составляли лишь 44,6 и 61,9 % от 3-го наиболее позднего срока сева.

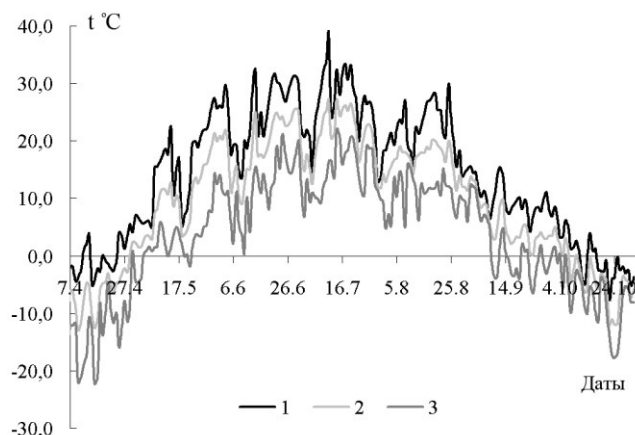
Что касается криопротекторной функции лютеина-эпоксида, то со второй половины августа до середины октября в листьях одно- и многолетних травянистых растений заметно увеличивается содержание лютеина+зеаксантина. Аналогичная картина наблюдается в листьях многолетних травянистых растений [Петров и др., 2010] и в хвое *Pinus sylvestris* L. в первой фазе закаливания [Петров и др., 2011]. Все это может быть связано с особенностями условий вегетаций (рис. 2). В настоящее время существует представление, согласно которому повышение концентрации лютеина+зеаксантина может происходить как за счет увеличения содержания зеаксантина, так и в результате усиленного образования лютеина из  $\alpha$ -каротина [Маслова, Марковская, 2012]. Последнее, по-видимому, имеет определяющую роль при отрицательных температурах, когда виолаксантиновый цикл перестает функционировать.

Дополнительным доказательством этому являются результаты наших опытов по

изучению каротиноидов, поступающих с кормом в организм гусениц *A. crataegi*, обладающих уникальной способностью открытой перезимовки в условиях самого жесткого низкотемпературного стресса криолитозоны Якутии. Желтые пигменты *A. crataegi* относятся к следующим первичным каротиноидам: виолаксантину, лютеину+зеаксантину и  $\beta$ -каротину. В осенне-зимний период по мере снижения температуры воздуха выявлено постепенное устойчивое повышение содержания лютеина+зеаксантина (от 110 до



**Рис. 1.** Содержание индивидуальных каротиноидов в листьях *Avena sativa* L. разных сроков сева (А – 17.06, Б – 07.07, В – 30.07) и уборки (I – 28.08, II – 17.09, III – 30.09, IV – 12.10), мкг/г сухой массы. 1 – неоксантин, 2 – виолаксантин, 3 – лютеин+зеаксантин, 4 –  $\beta$ -каротин.



**Рис. 2.** Усредненный ход среднесуточной температуры в летне-осенний период (2009-2010 гг.) в окрестностях г. Якутска. 1, 2, 3 – максимальная, средняя и минимальная суточная температура соответственно.

272 мкг/г сухой массы) и  $\beta$ -каротина (от 50 до 193 мкг/г сухой массы) с последующим обратным изменением до летних показателей. Содержание виолаксантина не изменялось и находилось на уровне от 20 до 30 мкг/г сухой массы. Обнаруженные в гусеницах *A. crataegi* каротиноиды поступают в их организм вместе с растительной пищей. Возможно, увеличение содержания каротиноидов (лютеина+зеаксантина и  $\beta$ -каротина) следует объяснить возрастанием в данный период их антиоксидантных свойств.

Таким образом, при адаптации к низкотемпературному стрессу у растений, а также у растительноядных насекомых, выявлено значительное уменьшение содержания эпоксиантофилла – виолаксантина и возрастание безэпоксидного лютеина (во фракции с зеаксантином).

#### Литература

Карнаухов В.Н. Функции каротиноидов – объект биофизических исследований // Биофизика, 2000. – Т. 45. – № 1. – С. 364-384.

Ладыгин В.Г., Ширшикова Г.Н. Современные представления о функциональной роли каротиноидов в хлоропластах эукариот // Журнал общей биологии, 2006. – Т. 67. – С. 163-189.

Маслова Т.Г., Марковская Е.Ф. Современные представления о функционировании виолаксантинового цикла (Развитие идей Д.И. Сапожникова) // Физиология растений, 2012. – Т. 59. – №3. – С. 472-480.

Петров К.А., Софронова В.Е., Чепалов В.А., Перк А.А., Максимов Т.Х. Сезонные изменения содержания фотосинтетических пигментов у многолетних травянистых растений криолитозоны // Физиология растений, 2010. – Т. 57. – №2. – С. 192-199.

Петров К.А., Софронова В.Е., Бубякина В.В., Перк А.А., Татарина Т.Д., Пономарев А.Г., Чепалов В.А., Охлопкова Ж.М., Васильева И.В., Максимов Т.Х. Древесные растения Якутии и низкотемпературный стресс // Физиология растений, 2011. – Т. 58. – №6. – С. 866-874.

## ПАТОГЕН-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ЛЕКТИНОВЫЕ БЕЛКИ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ

Г.Х. Шаймуллина, Р.Р. Хусаинова, Ю.Ю. Невмержицкая,  
П.В. Зеленихин, О.А. Тимофеева

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, [gulnazshajmullina@yandex.ru](mailto:gulnazshajmullina@yandex.ru)

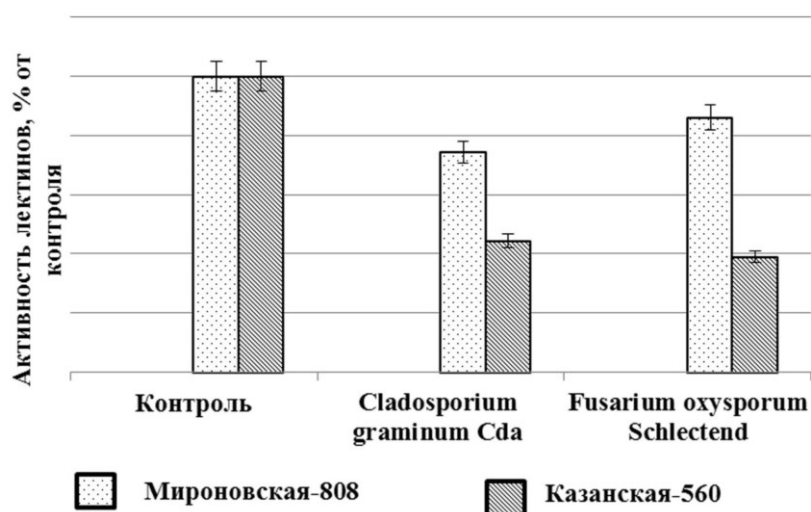
Лектины – это особый класс белков, обладающих способностью обратимо и специфически связываться с углеводными остатками различной химической природы. Потенциальная способность фитолектинов распознавать слабые различия в структуре углеводов послужила основанием для предположения об их участии в узнавании растением микроорганизмов и включении защитных механизмов. Работы разных исследователей подтверждают участие лектинов в механизмах фитоиммунитета [Ладыгина, Бабоша, 1996; Антонюк, Игнатов, 2001].

Целью данной работы было определение влияния фитопатогенных грибов на активность и молекулярную гетерогенность лектинов клеточной стенки в проростках озимой пшеницы.

Материалом наших исследований служили проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сортов Мироновская-808 и Казанская-560. Растения выращивали в лабораторных условиях в кюветах на водопроводной воде при освещении 100 Вт/м<sup>2</sup> и 12-часовом фотопериоде при температуре 23°C в течение 7 суток. Семена перед посевом

стерилизовали 2%-ным перманганатом калия (15 минут), промывали стерильной дистиллированной водой и замачивали на сутки в водном растворе со спорами фитопатогенных грибов. Инфицирование проводили двумя специфическими для пшеницы фитопатогенными грибами *Fusarium (F.) oxysporum* Schlechtend.:Fr. и *Cladosporium (C.) graminum* Cda. Растворимые лектины экстрагировали 0,05н HCl, лектины клеточной стенки – 0,05% раствором тритона X-100. Лектиновую активность определяли с помощью реакции гемагглютинации с эритроцитами I группы крови. Белок определяли по методу Bradford. Результаты обработали статистически, их считали достоверными при уровне погрешности  $\leq 5\%$  по критерию Стьюдента.

В наших экспериментах фитопатогены уменьшали активность растворимых лектинов у двух сортов озимой пшеницы (рис. 1). Вероятно, ингибирующее действие фитопатогенов на активность растворимых лектинов может быть обусловлено взаимодействием углеводсвязывающих центров этих белков с инфекционными структурами патогенов, в результате которого лектины не могут участвовать в агглютинации эритроцитов. При этом чувствительность активности растворимых лектинов к патогенам была меньше у Мироновской-808. Возможно, у Казанской-560 происходит более эффективная инактивация фитопатогенов за счет усиления взаимодействия лектиновых белков с углеводными гаптенами грибов.



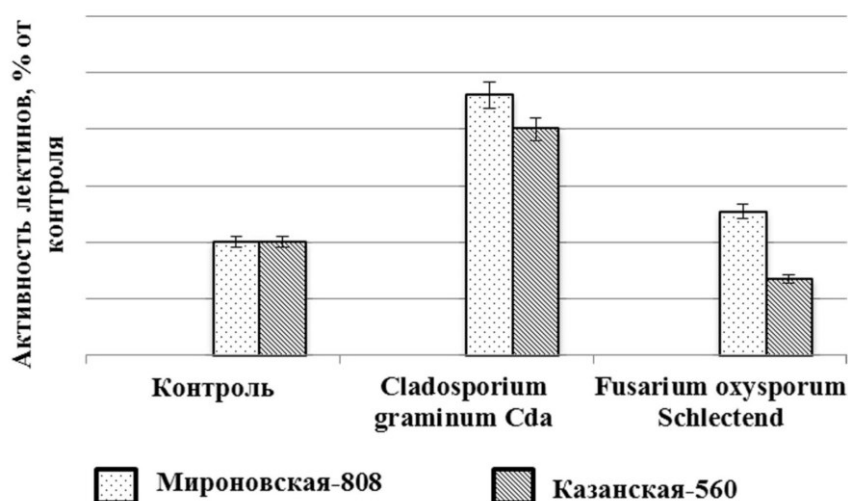
**Рис. 1. Активность растворимых лектинов озимой пшеницы сорта Мироновская-808 и Казанская-560 при инфицировании специфическими патогенными грибами.**

В литературе накоплено достаточное количество сведений, подтверждающих, что накопление лектинов тесно связано с индукцией устойчивого состояния растения-хозяина. В наших опытах заражение растений специфическим фитопатогеном *Cladosporium graminum* Cda. приводило к значительному повышению активности лектинов клеточной стенки у растений двух сортов (рис. 2). При этом ответная реакция растений на *Cladosporium graminum* Cda. была выражена сильнее по сравнению с *Fusarium spp.* *Fusarium spp.* усиливал активность лектинов клеточной стенки только у сорта Мироновская-808. По-видимому, этот сорт более восприимчив к *Fusarium spp.* по сравнению с Казанской-560. Следует отметить, что и степень поражения этим патогеном растений Мироновской-808 была выше по сравнению с Казанской-560.

В следующей части работы с помощью гель-фильтрации мы провели хроматографическое разделение белков клеточной стенки корней проростков озимой пшеницы сортов Мироновская-808 и Казанская-560, инфицированных специфическими патогенными грибами.

У растений Мироновской-808 в контрольном варианте среди полученных белковых фракций лектиновая активность обнаруживалась во фракциях, содержащих белки с молекулярной массой 79, 69, 55, 45, 35 кДа.

Белок с молекулярной массой 35 кДа предположительно может быть классическим лектином пшеницы – агглютинином зародыша пшеницы (АЗП). АЗП, резкое накопление которого происходит при разных неблагоприятных условиях, относится к экскретируемым белкам, выделение которого в наружную среду может иметь значение для предохранения ослабленных растений от почвенной инфекции [Шакирова, 2001].



**Рис. 2. Активность связанных с клеточной стенкой лектинов озимой пшеницы сорта Мироновская-808 и Казанская-560 при инфицировании специфическими патогенными грибами.**

Обнаруженные нами белки наряду с лектиновой активностью, могут обладать ферментативной активностью. Например, белки с молекулярной массой 79 кДа и 45 кДа могут быть ГТФ связывающими [Chivasa, 2002].

Патогенные микроорганизмы по-разному влияли на профиль элюции белков Мироновской-808. Кроме белков, выявленных у контрольных растений, в варианте с заражением *Cladosporium graminum* Cda, появились новые белки: 85, 81, 79, 51, 33 и 29 кДа, а при действии *Fusarium spp.* мы обнаружили белки с молекулярной массой 85, 75, 57, 55, 53, 45, 41, 35, 31 кДа.

В наших экспериментах при действии исследуемых фитопатогенов в профиле элюции белков клеточной стенки появились фракции среднемoleкулярных лектиновых белков, которые, предположительно, также могут участвовать в инактивации белкового синтеза патогенных микроорганизмов.

В профиле элюции белков клеточной стенки контрольных растений сорта Казанская-560 лектиновая активность была обнаружена во фракциях белков с молекулярной массой 79, 69, 61, 55, 45, 35 кДа. После инфицирования в хроматографическом профиле было обнаружено большое число интенсивных пиков как в области среднемoleкулярных, так и в области высокомолекулярных белков. Таким образом, у растений сорта Казанская-560, отличающихся меньшей восприимчивостью к фитопатогенам по сравнению с Мироновской-808, появилось большое количество белков клеточной стенки, обладающих агглютинирующей способностью.

Экспрессия генов некоторых лектиноподобных киназ возрастает при инфицировании и обработке элиситорами [Бабoша, 2008]. В норме лектины рецепторных ком-

плексов присутствуют в клетке в небольших количествах, но в процессе патогенеза их количество может многократно увеличиваться. Эти белки принимают участие в процессах специфического распознавания как внутри, так и за пределами клетки. В тоже время количественные и качественные изменения в составе белков клеточной стенки могут быть результатом повреждающего действия фитопатогенов на растительный организм. Однако высокая специфичность лектинов, в частности агглютинина зародыша пшеницы, к олигомерам хитина, по-видимому, позволяет отнести изменения в полипептидном составе клеточной стенки к защитным реакциям растений пшеницы при патогенезе, способствующим повышению их устойчивости к биотическим стрессам.

#### Литература

Антонюк Л.П., Игнатов В.В. О роли агглютинина зародыша пшеницы в растительно-бактериальном взаимодействии: гипотеза и экспериментальные данные в её поддержку // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, № 3. - С. 427-433.

Бабоша А.В. Индуцибельные лектины и устойчивость растений к патогенным организмам и абиотическим стрессам [Текст] / А.В. Бабоша // Биохимия. - 2008. - Т.73, вып. 7 - С. 1007-1022.

Ладыгина М.Е., Бабоша А.В. Физиолого-биохимическая природа вирусного патогенеза устойчивости и регуляции антиинфекционной активности // Физиология растений. - 1996. - Т. 43. - С. 729-742.

Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. - Уфа: Гилем, 2001. – 159 с.

Chivasa S., Ndimba B. K., Simon W. Proteomic analysis of the Arabidopsis thaliana cell wall // Electrophoresis. - 2002. - V. 23. - P. 1754-1765.

### **АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ КАК ФАКТОР УСТОЙЧИВОСТИ ЧЕРНОМОРСКИХ МАКРОВОДОРОСЛЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ТАКСОНОВ К ХОЗЯЙСТВЕННО-БЫТОВОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ**

О.А. Шахматова

Институт биологии южных морей НАН Украины, им.А.О. Ковалевского,  
Севастополь, oshakh@gmail.com

Исследование адаптационных механизмов, позволяющих организмам приспосабливаться к выживанию в широком диапазоне границ действия биотических и абиотических факторов, является крайне актуальным. Ключевым звеном адаптационных процессов считается метаболическая антиоксидантная система (АОС), активация которой рассматривается как универсальный отклик биоты на агрессивное воздействие окружающей среды. Инициация АОС, блокирующей распространение свободных радикалов при стрессе, проявляется в стимуляции активности ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, аскорбат- и глутатион-пероксидаз и редуктаз. Из них именно каталаза (EC 1.11.16) (КАТ) у большинства гидробионтов, в том числе и у макрофитов, проявляет максимальную ответную реакцию на изменение качества среды [Шахматова, 2004; Reters et al., 1994]. КАТ является акцептором салициловой кислоты, обеспечивающей повышение толерантности высших растений при развитии стрессового синдрома [Колупаев, 2007]. Установлено, что каталаза определяет устойчивость фототрофов к патогенным воздействиям [Ткаченко и др.; 2004; Мильчакова, Шахматова, 2007]. В последние годы усилился интерес к исследованию активности каталазы (АК) морских макрофитов. Сведения об АК массовых видов черноморских водорослей обширны [Ткаченко и

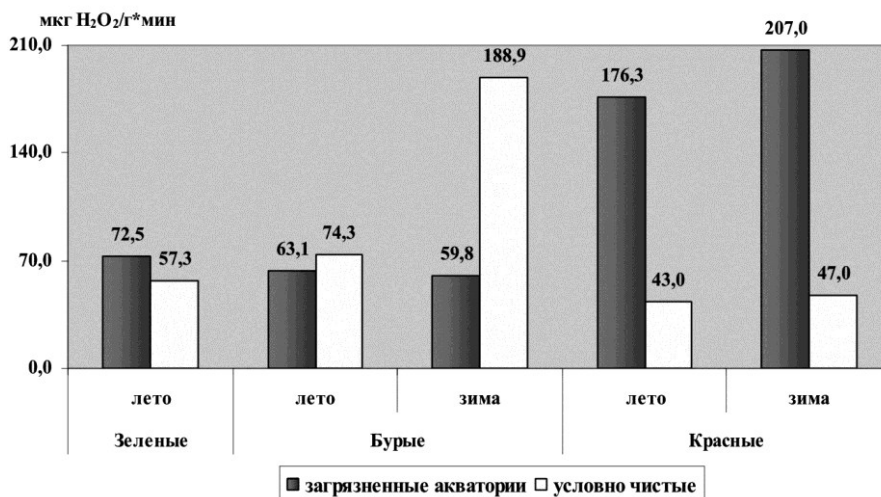
др.; 2004; Шахматова, 2004; Мильчакова, Шахматова, 2007; Шахматова, Мильчакова, 2009], но отрывочны и не систематизированы. В связи с этим целью настоящей работы было сравнение биохимического метаболического отклика фермента каталазы у наиболее массовых видов черноморских макрофитов различной таксономической принадлежности на хозяйственно-бытовое загрязнение.

**Материалы и методы.** Объектами изучения являлись 18 массовых видов черноморских макрофитов, среди которых 4 вида - зеленых: (*Chaetomorpha aerea* (Dillwyn) Kützing, *Cladophora albida* (Nees) Kützing, *Ulva intestinalis* Linnaeus, *Ulva rigida* C. Agardh; 6 – бурых: *Cladostephus spongiosus* (Huds.) C. Agardh, *Cystoseira barbata* (Stackhouse) C. Agardh, *Cystoseira crinita* Duby, *Dictyota fasciola* (Roth) J.V. Lamouroux, *Padina pavonica* (Linnaeus) Thivy in W.R. Taylor, *Scytosiphon lomentaria* (Lingbye) Link и 8 – красных водорослей (*Callithamnion corymbosum* (J.E. Smith) Lyngbye, *Ceramium diaphanum* (Lightfoot) Roth, *Ceramium virgatum* Roth., *Corallina elongata* J. Ellis et Solander, *Gelidium crinale* (Hare ex Turner) Gaillon, *Gelidium spinosum* (S.G. Gmelin) P.C. Silva, *Laurencia coronopus* J. Agardh, *Polysiphonia subulifera* (C. Agardh.) Harvey. Для анализа отбирали зрелые, сформированные талломы водорослей-литофитов в количестве 1- 2 г на глубине от 0,2 до 1 м на станциях прибрежных акваторий региона Севастополя, отличающихся степенью хозяйственно-бытового загрязнения и объемом поступающих стоков, в различные сезоны 2004 - 2009 гг. Выделены условно чистые и загрязненные районы.

Определение АК водорослей выполняли по методу Баха и Зубковой [Березов, 1976], основанному на способности КАТ разлагать перекись водорода на кислород и воду, адаптированному для макрофитов [Шахматова, 2004].

Сравнительная оценка отклика АК макрофитов различных таксономических групп на комплексное хозяйственно-бытовое загрязнение (средние значения АК внутри таксона для изученных видов) представлены на рис. 1.

Установлено, что максимальный отклик на воздействие стрессоров химической природы проявляли красные макроводоросли – увеличение АК в сильнозагрязненных



**Рис. 1. Сравнительная активность каталазы макроводорослей разных таксономических отделов в акваториях с различным уровнем загрязнения в весенне-летний и зимний периоды 2004-2009 гг.**

районах по сравнению с условно чистыми составляло 4,1 р. в летний и 4,4 р в зимний периоды. У зеленых водорослей ответ на загрязнение проявлялся не всегда регулярно, однако была отмечена тенденция увеличения их АК от слабо- к сильнозагрязненным акваториям (в 1,26 раз). У бурых водорослей отклик ферментативной антиоксидантной

системы, ядром которой является каталаза, на антропогенное загрязнение в условиях исследуемых акваторий, вообще не проявился. Обнаружено лишь незначительное снижение их АК в эвтрофных акваториях по сравнению с условно чистыми в 1,18 р в летний сезон., а в зимний отмечено существенное увеличение АК у макрофитов из условно чистых акваторий. Вероятно, их адаптационные защитные механизмы не задействуют антиоксидантные ферменты, а связаны с активацией каротиноидной и аскорбатной систем защиты [Aguilera et al., 1990]. Каротиноидная система защиты клеток от повреждающего действия свободного кислорода является более древней, чем ферментативная АОС.  $\alpha$ - и  $\beta$ -каротины были обнаружены в древнейших слоях палеозоя [Кальвин, 1972]. Примерно в это же время сформировались и были представлены там высокоразвитыми формами бурые водоросли, обособление же их в самостоятельную ветвь произошло еще ранее, до формирования высокоэффективных каталитических белковых систем. Тогда как красные водоросли появились значительно позднее, в меловом периоде [Комаров, 1961]. Не стоит также исключать возможность влияния на адаптационные механизмы бурых водорослей салицилатной системы, которая увеличивает толерантность растений к стрессовым воздействиям. Она блокирует активность каталазы; накапливающаяся в этом случае перекись водорода вызывает экспрессию защитных генов, которая повышает общую устойчивость организма [Саловарова и др., 2007]. Этот механизм запускается при затяжных стрессах в условиях хронической интоксикации. Кроме того, последние данные по изучению накопительной способности тяжелых металлов водными растениями [Чукина, 2010] свидетельствуют о формировании у них различных путей адаптации к стрессорам химической природы. Так, у видов-аккумуляторов адаптационные механизмы выражаются в общей инициации антиоксидантной системы, в активации АО ферментов и накоплении низкомолекулярных антиоксидантов, таких, как глутатион, витамины А и Е, то есть в увеличении общего антиоксидантного пула. Адаптационная стратегия видов-отражателей направлена на формирование защитных механизмов, предотвращающих проникновение поллютантов в клетки организма. У них формируется более толстая клеточная стенка, наблюдается увеличение размеров клеток мезофилла листа и пр. Данные изменения по сравнению с другими адаптациями отличаются достаточно медленными темпами. Существуют также и промежуточные формы адаптации, при которых растения используют адаптационные механизмы как первого, так и второго типа. Анализируя полученные результаты, можно предположить, что большинство исследуемых красных водорослей относится к видам-аккумуляторам, бурых – к видам-отражателям, зеленые же являются промежуточными видами, которые используют адаптационную стратегию как первого, так и второго типа.

#### Литература

- Березов Т.Т. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. - М. – Медицина, 1976. – С. 81-83.
- Кальвин М. Химическая эволюция. – М.: Мир, 1971. – 239 с
- Колупаэв Ю.Э. Можлива роль супероксиддисмутази у саліцилатіндукованому нагромадженні пероксидів в колеоптилях *Triticum aestivum* L. // Укр. Бот. журн. – 2007. – 64, №2. – С. 270-277..
- Комаров В.Л. Происхождение растений. – М.: Изд-во АН СССР, 1961. – 189 с.
- Миљчакова Н.А., Шахматова О.А. Каталазная активность массовых видов черноморских водорослей-макрофитов в градиенте хозяйственно-бытового загрязнения // Морской экологический журнал. – 2007. – 6, № 2. – С.44-57.
- Саловарова В.П., Приставка А.А., Берсенева О.А. Введение в биохимическую экологию. – Иркутск: Изд-во Иркут. гос. Университета, 2007. – 159 с.



Ткаченко Ф.П., Ситников Ю.А., Куцын О.Б. Состояние элементов антиоксидантной системы водорослей из разных по степени загрязненности районов Черного моря // Экология моря. – 2004. – 4, №6. – С. 70-74.

Чукина Н.В. Структурно-функциональные показатели высших водных растений в связи с их устойчивостью к загрязнению среды обитания: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Борок, 2010. – 25 с.

Шахматова О.А. Активность антиоксидантной системы некоторых черноморских гидробионтов в прибрежной акватории Севастополя: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Севастополь, 2004. – 21 с.

Шахматова О.А., Мильчакова Н.А. Активность каталазы черноморских видов *CYTOSEIRA* S.Ag. в различных экологических условиях // Альгология. – 2009. – Т.19, № 1. – С. 34 – 46.

Aguilera J., Bishof K., Karsten U. Seasonal variation in ecophysiological pattern in macroalgae from an Arctic fjord. II Pigment cumulation an biochemical defence system against high light stress // Marine Biology. – 2002. – N140. – P.1087 - 1095.

Peters L.D., Porte C., Albaiges J., Livingstone D.R. 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) and antioxidant enzyme activities in larvae of sardine (*Sardina pilchardus*) from the north coast in Spain // Mar. Pollut. Bull. –1994. – 28, № 5. – P. 299-304.

## **ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ДЕРЕВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ К ВЫПРЕВАНИЮ ПОД МОЩНЫМ СНЕЖНЫМ ПОКРОВОМ**

В.В. Шейко

Сахалинский филиал Ботанического сада-института ДВО РАН, Южно-Сахалинск, viktorsheiko@mail.ru

Как правило, проблемы перезимовки кустарников в зоне умеренного климата связаны с низкими температурами или суточными перепадами температуры. Но в районах с мощным снежным покровом, препятствующим промерзанию грунта, в качестве лимитирующего фактора нередко выступает выпревание корневой шейки. В то же время случаи выпревания кустарников периодически фиксируются и в районах с глубоким промерзанием почвы, например, в Сибири [Встовская, 1986] – в ситуации, когда снег в конце осени ложится на непромёрзшую почву. На юге Сахалина высота снежного покрова на открытых участках долины к концу зимы бывает в среднем около 60 см, но в лесистой местности (где расположен ботанический сад) и в понижениях рельефа мощность скоплений снега нередко превышает метр, иногда бывает более полутора метров, в горах – до нескольких метров. Сухая почва в Южно-Сахалинске промерзает в среднем до глубины 57 см, влажная – менее чем на 40 см [Климат Южно-Сахалинска, 1982]. В лесных массивах, где снега больше, почва промерзает не более чем на 20 см, нередко не промерзает вовсе [Клинецов, 1976]. Поэтому на наиболее увлажнённых участках выпревание может происходить на протяжении всего зимнего сезона, на остальной территории – двумя волнами: первая, как и в Сибири, – в конце осени-начале зимы, вторая – весной. Весеннее выпревание связано с тем, что, с одной стороны, Южно-Сахалинск располагается на широте Астрахани, с соответствующей инсоляцией в марте-апреле. С другой – сход снега происходит в среднем 10 апреля, иногда – в начале мая. Как показали наши наблюдения, в первую половину весны на солнечных местах даже при толщине снега 80 см поверхность почвы может оттаивать, и там начинают отрастать этиолированные травы. Последствия весеннего выпревания обычно проявляются через две-три недели после схода снега. Это можно объяснить тем, что выпревание, как правило, – процесс двухэтапный. Сначала в силу чисто физиологических причин происходит ис-

тошение запаса углеводов [Кружилин, Шведская, 1986], а затем ослабленные ткани инфицируют грибы-психрофилы, которые нередко являются лишь факультативными паразитами, в иной ситуации проявляющими себя, как сапротрофы [McBeath, 2002].

Наблюдения вели за представителями родов, часть или все виды которых подвержены в условиях Сахалина выпреванию корневой шейки. Это рода *Leycesteria* Wall., *Lonicera* L., *Symphoricarpos* Duham. (*Caprifoliaceae* s.str.), *Sambucus* L. (*Sambucaceae*), *Armeniaca* Scop., *Cotoneaster* Medik., *Microcerasus* (Spach) Webb., *Prinsepia* Royle (*Rosaceae*), *Berberis* L. (*Berberidaceae*), *Metasequoia* Hsu et W.C. Cheng (*Taxodiaceae*). Ареалогический анализ видов, страдающих от выпревания, показал, что наименее устойчивы растения, распространённые в континентальных районах Восточной Азии и в южной части Центральной Азии. Причём, как правило, это представители родов, центр (реже – один из центров) видового и систематического разнообразия которых, а, следовательно (с высокой вероятностью), и центр происхождения располагается в континентальных районах Восточной Азии. А рода *Prinsepia* [Пилюпенко, 1954], *Leycesteria* [Wang, 1988; Quin...] и *Metasequoia* являются даже эндемичными для этого региона. Казалось бы, выбивается из общего правила преимущественно североамериканский род *Symphoricarpos*. Однако единственным видом снежнягодника, продемонстрировавшим 100%-ное выпревание, был единственный восточноазиатский представитель этого рода – *Symphoricarpos siensis* Rehd. Этот вид, кроме того, отличается чёрным цветом плодов, что, в отличие от американских видов, сближает его с жимолостью и лейцестерией, которые, согласно данным геносистематики, являются для снежнягодника родственными родами [Donogue, Bell, Winkworth, 2003]. Другое исключение из правила – имеющая островной ареал *Microcerasus japonica* (Thunb.) Roem. Однако, с точки зрения В.А. Недолужко [1996], она является лишь подвидом *M. humilis* (Bunge) Roem., которая широко распространена в Северном и Северо-Восточном Китае.

Представители крупных родов (*Berberis*, *Cotoneaster*, *Lonicera*), подверженные выпреванию, – это, как правило, кустарники, в условиях Сахалина являющиеся вечнозелёными. Результаты наблюдений за видами рода *Lonicera* сравнили с результатами интродукции тех же видов в Сибири [Встовская, 1996]. Оказалось, что хотя в Сибири условия зимы, казалось бы, меньше способствуют выпреванию, подвержены там этому явлению те жимолости, которые на Сахалине вполне устойчивы. А вечнозелёные растения, выпревающие на Сахалине, в Сибири не испытывались. В список неустойчивых там видов попали листопадные жимолости из северных районов континентальной части Восточной Азии.

Как континентальная часть Восточной Азии, так и юг Центральной Азии имеют некоторые общие черты климата. Не только материковую Восточную Азию с её ярко выраженными муссонами, но и южные районы Тибета [Яндекс-Погода-Лхаса-Климат] отличают зимняя засуха и продолжительная сухая тёплая осень. То есть виды, неустойчивые к выпреванию корневой шейки, – это деревья и кустарники, адаптированные к малоснежным зимам и к длительному сохранению благоприятных погодных условий в период подготовки к зиме. Учитывая, что условия осени на юге Сахалина имеют преимущество перед Сибирью, решающим для устойчивости при интродукции является, по-видимому, именно последний фактор.

В условиях Сахалина разные экземпляры одного и того же вида различаются по подверженности выпреванию в зависимости от условий выращивания. Так, на примере рода *Leycesteria* было показано, что эффект выпревания существенно ослабевает при создании условий для более раннего начала подготовки к зиме. Такими условиями являются ограничение корневого питания путём выращивания в небольшом вазоне, либо, в меньшей степени, – путём высадки на самый освещённый, прогреваемый и сухой, но малоплодородный участок. Учитывая, что особенностью лейцестерии является повы-

шенная физиологическая активность тканей её коры [Нилова, 2001], в процессе длительного осеннего вызревания побегов данная характеристика, вероятно, существенно снижается. По-видимому, с тем же эффектом связана более высокая устойчивость экземпляров вечнозелёных видов *Cotoneaster*, высаженных в глинистую почву на участке, где велась недостаточная борьба с сорняками. В результате эти растения представляли собой крошечные кустики, почти не видимые в траве (тоже невысокой по причине бедности почвы). Но зимовали они гораздо лучше, чем те же экземпляры, высаженные в благоприятные почвенные условия при стандартном агроходе.

На примере рода *Lonicera* был отработан и другой, более эффективный метод повышения устойчивости к выпреванию. На ряде примеров было продемонстрировано, что укоренённые отводки подвержены выпреванию в гораздо меньшей степени, чем маточные экземпляры. На второй год полученные из отводков растения теряют такую устойчивость. На основе данной особенности была разработана методика создания клонов вечнозелёных жимолостей с ежегодным формированием парциальных кустов. Каков физиологический механизм такого явления, для нас пока неясно.

#### Литература

Климат Южно-Сахалинска / под ред. Ц.А. Швер, Д.Ф. Лазаревой. – Л.: Гидрометеоиздат, 1982. – 256 с.

Клинцов А.П. О влиянии леса на снегонакопление и промерзание почв на юге Сахалина // Природные условия Сахалина. Сб. статей. – Л.: Геогр. общ-во СССР, 1976. – С. 71-78.

Недолужко В.А. Подсем. *Prunideae* Focke // Сосудистые растения советского Дальнего Востока. – СПб.: Наука, 1996. – Т. 8. – С. 235-246.

Нилова М.В. Сравнительная анатомия коры представителей семейства *Caprifoliaceae* s. l. // Ботан. журн. 2001. – Т. 87. № 11. – С. 37-48.

Пилипенко С.Ф. Род 38. Принсепия - *Prinsepia* Royle // Деревья и кустарники СССР. Дикорастущие, культивируемые и перспективные для интродукции. – М.-Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1954. – Т. 3. – С. 782-784.

Яндекс – Погода – Лхаса – Климат: <http://pogoda.yandex.ru/lhasa/climate>

Donoghue M.J., Bell C.D., Winkworth R.C. The evolution of reproductive characters in *Dipsacales* // Int. J. Plant Sci. 2003. – Vol. 164. № 5. – P. 453-454.

Qin-E. Y. *Caprifoliaceae* (sensu stricto) [Draft] China: [http://www.flora.ac.cn/volume19/Caprifoliaceae-AGH\\_coauthoring.htm](http://www.flora.ac.cn/volume19/Caprifoliaceae-AGH_coauthoring.htm)

Wang H.-J. *Leycesteria* Wall. // Flora Republicae Popularis Sinicae. Delectus florum Republicae Popularis Sinicae. – Beijing: Science Press, 1988. – Т. 72. – P. 139-142.

### **ИЗМЕНЕНИЕ БИОМЕТРИЧЕСКИХ И НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ РАСТЕНИЙ МЯТЫ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ СВЕТА НЕИЗМЕННОГО СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА**

О.В. Шелепова, В.В. Кондратьева, Т.В. Воронкова,  
Л.С. Олехнович, Г.Ф. Бидюкова, О.Л. Енина

ГБС РАН, Москва, shelepova-olga@mail.ru, lab-physiol@mail.ru

Мята – одно из важнейших эфиромасличных растений, широко используемое как для получения аптечного листа, так и для выделения эфирного масла, применяемого в медицинской, пищевой и парфюмерной промышленности. Ключевую роль в развитии и росте мяты, а также в формировании ее секреторного железистого аппарата играет

свет, определяя направленность фотоморфогенеза, регулируя ход ряда метаболических процессов, и, в конечном итоге, синтез вторичных метаболитов, входящих в состав эфирного масла. Важна не только интенсивность освещения, оптимальность которой варьирует в зависимости от вида растений, но и спектральный состав света. В фотоморфогенезе растению особенно важен свет красной и синей полос спектра. Увеличение квантов красного света может активировать альтернативные пути транспорта электронов в тилакоидных мембранах хлоропластов, менять интенсивность фотосинтеза [Егорова, 2005].

Целью нашего исследования было определение ответных реакций растений сорта мяты Памяти Кириченко, полученный методом аналитической селекции из растений вида *Mentha arvensis* L. природной флоры северного Вьетнама, при длительном (6 месяцев) освещении светодиодными панелями с неизменным спектральным составом света. Растения помещали в климатические камеры с освещением светом различного спектрального состава: контроль (К) — белый свет от люминесцентных ламп; вариант I — красный свет от светодиодных панелей при длине волны 420 нм и 620 нм в соотношении 1:3 (КС-I); вариант II — красный свет от светодиодных панелей при длине волны 420 нм и 660 нм в соотношении 1:3 (КС-II), более подробно условия опыта описаны в работе [Шелепова, 2012]. После завершения шестимесячного освещения были проанализированы биометрические и физиолого-биохимические параметры целого растения и его органов: длина побегов, их количество, масса подземной части растения, размеры, количество и суммарная масса листьев, соотношение надземной и подземной массы растения, а также состояние мембранной системы листьев, содержание в их тканях пигментов, салициловой и хлорогеновой кислот, и состав эфирного масла.

Габитус растений сорта мяты существенно изменялся при длительном освещении светодиодными панелями как в первом, так и во втором варианте опыта. Особенно негативно на них повлияло длительное воздействие излучения с преобладанием квантов красного света с длиной волны 660 нм. Длина побегов в этом варианте увеличилась в 1,2 раза по сравнению с контролем, но масса их снизилась в 2,0 раза. Общее количество побегов также было меньше в 1,4 раза, чем в контроле. Количество листьев возросло (в 1,4 раза), однако они были мелкие и их суммарная масса уменьшилась в 6,8 раз. Масса корней также снизилась в 3,2 раза. В итоге, у растений в варианте КС-II изменилось соотношение массы надземной и подземной частей растения (1,20), тогда как в контроле оно составило 1,42.

Красный свет с преобладание квантов 620 нм не оказал негативного воздействия на биометрические параметры сорта - отмечено увеличение общего количества листьев (в 1,2 раза), массы побегов (в 2,1 раза) и корней (3,2 раза), но размеры листьев уменьшились. В итоге, несмотря на увеличение массы стеблей, превышение надземной массы над массой корней существенно сократилось (0,44). Следует отметить, что в варианте КС-I растения сорта мяты перешли в генеративную фазу и образовали цветки как на центральном побеге, так и на боковых ответвлениях.

Негативное воздействие длительного освещения светом отражается на избирательной проницаемости мембран клеток растений к отдельным ионам и небольшим молекулам, включая воду. О состоянии мембран клеток листьев судили по выходу электролитов из высечек листьев в бидистиллят. Под воздействием КС-I у растений выход электролитов из клеток листьев возрос по сравнению с контролем. Увеличение это произошло за счет ионов  $K^+$ . Водонасыщенность клеток тканей листьев в этом варианте была ниже, чем в контроле. В варианте КС-II избирательная проницаемость мембран клеток также изменилась - выход электролитов возрос, но уже за счет нитратного иона, водоудерживающая способность мембран тканей листьев возросла на 2,7%. Возможно, спектральный свет в варианте КС-II мог инициировать протекторные механизмы,

направленные на стабилизацию фосфолипидного комплекса мембран, так как преобладание квантов света той или иной длины волны активирует различные фоторецепторы и неоднозначно влияет на метаболические процессы.

Состояние фотосинтетического аппарата растений мяты при длительном действии света неизменного спектрального состава также претерпело существенные изменения. Монохромный свет, как правило, снижает уровень фотосинтезирующих пигментов. В варианте КС-II растения имели повышенное содержание хлорофиллов "a" и "b", но отношение хлорофилла "a" к "b" было ниже, чем на белом свете. Вариант КС-I не только снизил отношение хлорофилла "a" к "b", но и уменьшил содержание каждого из них по сравнению с содержанием этих пигментов в контроле.

Способность растений изменять свой метаболизм под воздействием внешних условий играет ключевую роль в понимании механизма выживания. Одним из индукторов защитных реакций растений в ответ на биотические и абиотические стрессы является салициловая кислота, выполняющая важную функцию в регуляции физиолого-биохимических процессов на протяжении всего жизненного цикла растений, так как она включает сигнальную каскадную сеть, связывающую воздействие стрессора на растение и ответ растительного организма на это воздействие. У растений мяты сорта «Памяти Кириченко» уровень СК возрос при обоих вариантах освещения. Однако, в варианте КС-I ее содержание было в два раза выше, чем в контроле. Только в этом варианте растение цело, а его габитус был ближе к естественному, по сравнению с таковым у мяты в варианте КС-II. Кроме того, на листьях мяты в первом варианте сформировано больше секреторных железок на единицу площади [Воронкова, 2011] и выход эфирного масла, содержание которого сопряжено с уровнем СК, был выше. Другим составляющим компонентом каскадной защитной системы является хлорогеновая кислота. Ее уровень в тканях растений на КС-I возрос, а на КС-II снижался, по сравнению с белым светом.

Эфирное масло имеет сложный компонентный состав, в нем идентифицировано более 100 индивидуальных компонентов, большинство компонентов присутствует в составе в минорных количествах и только ряд компонентов стабильно представлены в значительных количествах ( $\geq 1\%$  от общего содержания) (табл. 1).

Анализ полученных данных показал, что по составу эфирного масла растения, выращенные при белом свете и варианте КС-I, существенно не отличались. Однако, соотношение компонентов в эфирном масле вариантов опыта несколько варьировало. Так, в варианте КС-I возросло содержание промежуточных продуктов ( $\alpha$ - и  $\beta$ -пинены, изоментон, изометилацетат, метилацетат, изоментол) и снизилось содержание конечных продуктов биосинтеза терпенов (циклических монотерпенов - ментон, ментол). По-видимому, красный свет, с преобладанием длины волны 620 нм (вариант КС-I) способствовал пути синтеза ментола через пулегон, в то время как белый свет – через пиперитон.

Итак, при длительном освещении растений светом невысокой интенсивности неизменного спектрального состава с преобладанием квантов красного света при длине волны 620 и 660 нм, растения мяты сорта Памяти Кириченко испытывали стрессовое воздействие. Менялся их морфогенез и направленность метаболических процессов, что отражалось на габитусе растений: удлинялись побеги, увеличивалось количество листьев, но уменьшались их размеры и общая фотосинтезирующая поверхность, снижалось количество хлорофилла и уменьшалось соотношение хлорофилла "a" и хлорофилла "b", что в конечном итоге влияло на продуктивность растений, снизилась избирательная проницаемость их мембран, возрос уровень сигнальных молекул, инициирующих защитные и адаптационные механизмы растений, изменилось соотношение компонентов в эфирном масле (возросло содержание промежуточных продуктов биосинтеза).

Таблица. 1

## Состав эфирного масла растений сорта Памяти Кириченко

Компоненты	Контроль	КС-1
$\alpha$ - и $\beta$ -пинены	0,19+0,10	0,33+0,21
Сабинен	0,11	<0,01
D-Лимонен	0,20	0,70
1,8-Цинеол	0,06	0,14
Ментон	6,06	3,18
Изоментон	7,96	8,73
Изометилацетат	0,05	0,21
Метилацетат	12,33	29,35
<i>изо</i> -Пулегилацетат	0,07	0,16
Неометилацетат	0,18	0,51
Изоментол	0,70	0,94
$\beta$ -кариофиллен	0,04	0,80
Неоментол	1,00	1,11
Ментол	68,17	50,73
Пулегон	0,36	0,91
<i>изо</i> -Неоментол	0,44	0,31
Гермакрен D	<0,01	0,21
Пиперитон	0,30	0,24
Бензиловый спирт	0,81	0,15
Кариофиллен оксид	0,38	0,17

*Работа выполнена при частичной поддержке программы Отделения биологических наук РАН «Биологические ресурсы России: динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий» и гранта РФФИ 11-04-01820.*

## Литература

Воронкова Т.В., Шелепова О.В. Формирование секреторных железок на листьях *Mentha L.* под влиянием света разного спектрального состава. // Научные ведомости БГУ. Естественные науки, 2011. – Вып. 14/1. – №3. – С.172-176.

Егорова Е.А., Дроздова И.С., Бухов Н.Г. Индуцированные дальним красным светом модуляции активности альтернативных путей электронного транспорта, связанных с фотосистемой I // Физиология растений, 2005. – Т. 52. – С. 805-813.

Шелепова О.В., Кондратьева В.В., Воронкова Т.В., Олехнович Л.С., Енина О.Л. Физиолого-биохимические аспекты длительного воздействия света неизменного спектрального состава на мяту (*Mentha*) // Бюл. Гл. бот. сада. – 2012. – Вып. 2. – С. 68-73.

### ВЛИЯНИЕ ГЕРМАТРАНОЛА НА УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ К ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

А.М. Шигарова<sup>1</sup>, Г.Б. Боровский<sup>1</sup>,  
Тхюи Занг Ле Ньят<sup>2</sup>, В.П. Барышок<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, anas\_shig@mail.ru

<sup>2</sup>Иркутский государственный технический университет, Иркутск

В настоящее время поиск экологически безопасных биостимуляторов роста растений, а также веществ, обладающих адаптогенными свойствами, особенно в микромо-

лярных, наномолярных и сверхнизких концентрациях приобретает особую актуальность, в связи с глобальными изменениями климата и ростом общей нестабильности погодных явлений. Из числа биологически активных веществ (БАВ) интерес для растениеводства могут представлять трициклические хелатные германиевые эфиры триэтанолamina (герматраны) [Карцев и др., 1983]. В нашей работе исследовали действие вещества из этого класса - моногидрата 1-гидроксигерматрана -  $N(CH_2CH_2O)_3GeOH \cdot H_2O$  (далее просто герматранол). Это вещество синтезировано в Иркутском институте химии и представляет собой белый кристаллический порошок, хорошо растворимый и, в отличие от силатранов, гидролитически устойчивый в воде [Хромова и др., 1985].

Ранее было установлено, что герматраны повышают устойчивость растений к действию неблагоприятных факторов. Так, например, опрыскивание виноградных растений водными 0,0001-0,1% растворами герматрана повышает морозостойкость зимующих почек растений [Воронков и др., 1988]. А замачивание семян водными растворами герматранов в концентрации 50-300 мг/л увеличивает всхожесть и ускоряет рост растений пшеницы, огурца, петрушки [Патент РФ 2073439, 1997].

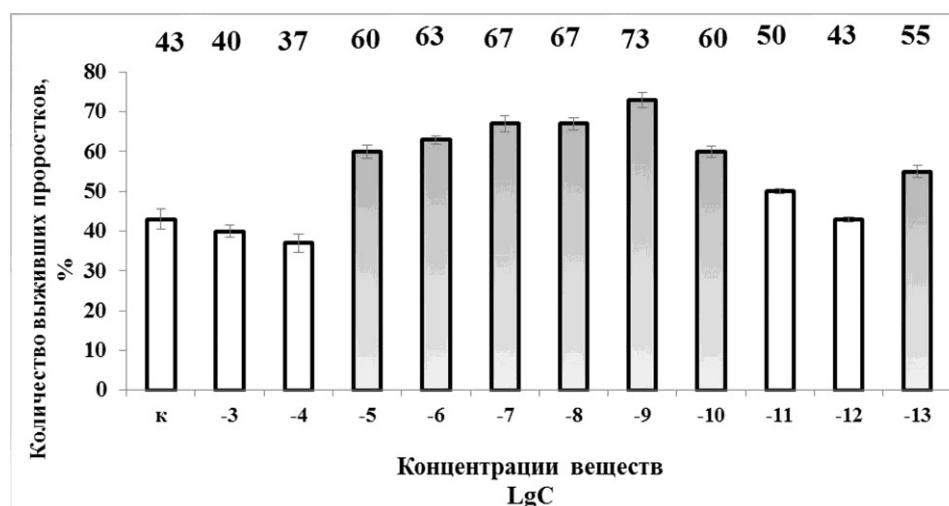


Рис. Выживаемость проростков пшеницы в условиях высокой температуры (50°C, 8 ч).

LgC – логарифм молярных концентраций герматранола. Статистически достоверные различия ( $p < 0,05$ ) выделены тёмным цветом.  $n=3$

В экспериментах использовали двухсуточные этиолированные проростки пшеницы (*Triticum aestivum*, L.) сорта Новосибирская 29, выращенные при 24°C на фильтровальной бумаге в дистиллированной воде, которые выдерживали 8 ч. при 50°C (жесткий тепловой стресс) в присутствии исследуемого вещества или без него. Герматранол использовали в концентрациях от  $10^{-3}M$  до  $10^{-13}M$ , приближающейся к сверхнизким.

Исследования показали, что растворы герматранола в концентрациях от  $10^{-5}M$  до  $10^{-10}M$  статистически достоверно и, в некоторых концентрациях, значительно увеличивали устойчивость проростков пшеницы к жесткому высокотемпературному стрессу. Биохимический механизм действия исследуемого вещества на растительную клетку остается неизвестным, но можно предположить, что растворы герматранола оказывают адаптогенное действие, свойственное соединениям атрановой структуры [Воронков, Барышок, 2010] и увеличивают термоустойчивость повышая стабильность мембраны и мембранных структур клетки. Кроме того, это может быть связано с накоплением белков теплового шока, которые могут оказывать защитное действие, что ранее было показано для других соединений атрановой структуры [Шигарова и др., 2012]. В дальнейшем планируется более детальное изучение действия на растения герматранола и других 1-замещённых герматранов.

#### Литература

Воронков М.Г., Левит Т.Х., Кириллов А.Ф., Барышок В.П., Козьмик Р.А. и др. Доклады АН СССР, 1988. - Т.299, № 2. - С. 509-512.

Воронков М.Г., Барышок В.П. Атраны – новое поколение биологически активных веществ // Вестник РАН, 2010.- Т.80, №11. - С.985-992.

Карцев Г.Н., Акиншина Г.А., Игнатъева С.И., Хромова Н.Ю., Гар Т.К. Герматраны. // Журнал Общей Химия, 1983. - Т.53, №8. – с.1795-1801.

Хромова Н.Ю., Гар Т.К., Миронов В.Ф. Герматраны и их аналоги. - Москва: НИИТЭХИМ, 1985. - 42 с.

Шигарова А.М., Коротаева Н.Е., Боровский Г.Б., Воронков М.Г. Влияние триэтанолamina и силатранов на термоустойчивость и накопление стрессовых белков у проростков гороха // Физиология растений, 2012. – Т.59, № 5 - с.1-8.

### **ROLE OF LIPIDS IN MOLECULAR MECHANISM OF THE XANTHOPHYLL CYCLE**

K. Strzalka

Jagiellonian University, Krakow, Poland, kazimierzstrzalka@gmail.com

One of the types of the xanthophyll cycles, is the violaxanthin cycle which is widespread and operates in all higher plants, ferns, mosses and several groups of algae. Violaxanthin cycle functions as a photoprotective mechanism involving conversion between three xanthophylls: violaxanthin, antheraxanthin and zeaxanthin [Latowski et al. 2004a]. In diatoms another type of xanthophyll cycle, the diadinoxanthin cycle, is present in which interconversion between diadinoxanthin and diatoxanthin occurs. The enzymes: violaxanthin de-epoxidase, removing epoxy-groups from di-epoxide violaxanthin and mono-epoxide antheraxanthin, as well as diadinoxanthin de-epoxidase, removing an epoxy-group from mono-epoxide diadinoxanthin require for their activity presence of a galactolipid, monogalactosyldiacylglycerol (MGDG). Studies have been undertaken on the influence of various type of lipids on the activity of both de-epoxidases. In these studies four different lipid types were compared: MGDG, digalactosyldiacylglycerol (DGDG), phosphatidylethanolamine (PE) and phosphatidylcholine (PC). Of these four lipid species only two, MGDG and PE, induced de-epoxidation activity of both de-epoxidases, while the other two, DGDG and PC did not have any effect on this activity [Latowski et al. 2004b]. A relationship has been found, that the lipids forming inverted hexagonal structures promote enzymatic activity of de-epoxidases, whereas bilayer forming lipids do not produce this effect. The chemical character of the lipid is of no importance in this respect.

It was also found that non-bilayer lipids (MGDG, PE) were much more effective than bilayer lipids in dissolving both violaxanthin and diadinoxanthin. In the binary lipid mixture which forms a bilayer containing domains of inverted hexagonal structures, a preferential segregation of diadinoxanthin into these domains has been observed [Goss et al. 2007]. The importance of the pigment distribution between different lipid phases and the significance of the three-dimensional structure of the inverted hexagonal phase for the activity of de-epoxidases is discussed. Also a molecular mechanism of lipid-dependent violaxanthin de-epoxidation occurring both in model systems as well as *in vivo* is proposed [Schaller et al. 2010].

#### Literature

Goss R., Latowski D., Grzyb J., Vieler A., Lohr M., Wilhelm C., Strzalka K. Lipid dependence of diadinoxanthin solubilization and de-epoxidation in artificial membrane systems



resembling the lipid composition of the natural thylakoid membrane // *Biochimica et Biophysica. Acta*, 2007. - No1768. – p. 67-75.

Latowski D., Grzyb J., Strzalka K. The xanthophyll cycle – molecular mechanism and physiological significance // *Acta Physiologiae Plantarum*, 2004a. - No26. – p. 197-212.

Latowski D., Akerlund H.-E., Strzalka K. Violaxanthin de-epoxidase, the xanthophyll cycle enzyme, requires lipid inverted hexagonal structures for its activity // *Biochemistry*, 2004b. – No43. – p. 4417-4420.

Schaller S., Latowski D., Jemiola-Rzeminska M., Wilhelm C., Strzalka K., Goss R. The main thylakoid membrane lipid monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) promotes the de-epoxidation of violaxanthin associated with the light-harvesting complex of photosystem II (LHCII) // *Biochimica et Biophysica Acta*, 2010. – No1797. – p. 414-424.

## СЕКЦИЯ 2. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НЕГАТИВНЫХ ФАКТОРОВ РАЗНОГО ГЕНЕЗИСА

### ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ КАК ФАКТОР ИХ УСТОЙЧИВОСТИ К ХИМИЧЕСКОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ СРЕДЫ

В.С. Безель<sup>1</sup>, Т.В. Жуйкова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, bezel@ipae.uran.ru

<sup>2</sup>Нижнетагильская государственная социально-педагогическая академия, Нижний Тагил, hbfnt@rambler.ru

Понятие генетической гетерогенности природных популяций было сформулировано С.С. Четвериковым [1926]. Совокупность данных популяционной генетики убедительно свидетельствует о том, что природные популяции гетерогенны по любым признакам и свойствам, в том числе тем, которые прямо связаны с толерантностью организмов в условиях химического загрязнения среды [Глотов, 1983; Глотов, Тараканов, 1985].

Одним из важнейших проявлений адаптационных процессов является направленное изменение их эколого-генетической структуры, позволяющее популяции выполнять свои биогеоценотические функции в изменившихся условиях среды. Такая модификация структуры возникает и в результате взаимодействия токсического фактора и исходного полиморфизма природных популяций.

Таким образом, устойчивость популяции к внешнему токсическому фактору определяется не средней толерантностью входящих в ее состав особей, а разнокачественностью этих особей и наличием среди них более толерантных организмов. Это свидетельствует о том, что устойчивость природных популяций по отношению к токсическим воздействиям есть не проявление совокупных свойств особей ее составляющих, а некоторое новое эмерджентное свойство биологических систем популяционного уровня.

В фоновых условиях популяционные параметры характеризуются некоторым эволюционно закрепленным частотным распределением, гарантирующим адекватную реакцию на возможные изменения «традиционных» погодно-климатических условий. Многочисленными авторами отмечено, что при химическом стрессе возможно отклонение этих распределений в большую или меньшую сторону. При этом возможна частичная потеря популяцией особей максимально приспособленных к смене этих «традиционных» условий. Максимально адаптированная к химическому загрязнению ценопопуляция сохраняет тем большую способность адекватно реагировать на смену погодных условий, чем значительно перекрываются частотные распределения ее параметров с аналогичным распределением параметров ценопопуляции фоновой территории.

Рассмотрен ряд ценопопуляций одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.), произрастающих в градиенте химического загрязнения почв тяжелыми металлами (Zn, Cu, Cd, Pb, Co, Ni, Mn, Cr, Fe). В исследуемых ценопопуляциях данный вид представлен двумя морфологическими формами – одуванчиком Дальштедта (*T. officinale* f. *dahlstedtii* Lindb. fil.) и одуванчиком гребенчатовидным (*T. officinale* f. *pectinatiforme* Lindb. fil.), которые характеризуются рядом отличительных признаков, в

том числе связанных с формой и степенью рассеченности листовой пластинки. Морфологические признаки форм устойчивы в течение всего онтогенеза. В данной работе представлены результаты последовательного изучения реакция этих морфологических форм на возрастающие концентрации химических элементов в почве.

*Доля участия морфологических форм в ценопопуляциях.* Более многочисленна на всех участках *f. dahlstedtii*. Доля этой формы в отдельные годы на участках составляет от 56 до 87 % от общей численности. Химическое загрязнение приводит к уменьшению в ценопопуляциях доли *f. dahlstedtii* ( $R^2 = 0.84$ ;  $p < 0.001$ ).

*Накопление химических элементов в корневых системах растений.* В качестве показателя накопительных способностей корневой системы растений рассмотрена частота встречаемости растений с различным содержанием металлов в корнях. В случае цинка и меди показано, что с низким содержанием данных микроэлементов в корнях наиболее часто встречаются растения *f. dahlstedtii*, с высоким *f. pectinatiforme*.

*Реакция морфологических параметров на токсическую нагрузку.* В течение нескольких вегетационных сезонов анализировали морфологические показатели растений (максимальную длину листа, ширину левой и правой третьей от конечной доли листа, число листьев и генеративных побегов, длину генеративного побега и др.). В дискриминантном анализе группирующей переменной выступал год исследования. В качестве интегрального показателя, отражающего реакцию морфологической структуры *f. dahlstedtii* и *f. pectinatiforme* на условия вегетационного сезона использованы средние квадраты расстояний Махаланобиса. Анализ проведен отдельно для каждой формы одуванчика на каждом исследуемом участке. Максимальные различия между морфологическими параметрами у *f. dahlstedtii* и *f. pectinatiforme* в разные по погодноклиматическим условиям вегетационные сезоны показаны при низком уровне загрязнения. С увеличением токсического воздействия происходит частичное стирание различий между морфологическими формами по реакции исследуемых признаков на колебания погодноклиматических факторов. Различия между формами одуванчика по совокупности морфологических признаков подтверждены дискриминантным анализом ( $F = 4.14$ ;  $p < 0.01$ ).

*Онтогенетические стратегии *f. dahlstedtii* и *f. pectinatiforme*.* Для оценки степени интегрированности (взаимообусловленности) развития морфологических структур организма использован коэффициент детерминации признаков ( $R^2_m$ ) – среднее значение квадратов коэффициентов корреляции всех признаков. В анализ включены следующие признаки: длина листа, ширина левой и правой доли листа, индекс листа, число листьев и генеративных побегов. Для *f. dahlstedtii* и *f. pectinatiforme* выявлены разнонаправленные онтогенетические стратегии выживания: у *f. dahlstedtii* проявляется защитная компонента в стратегии выживания: в градиенте возрастающей токсической нагрузки происходит усиление морфологической интеграции, у *f. pectinatiforme* – комбинированная стрессово-защитная стратегия.

*Реакция семенной продуктивности на химическое загрязнение при различающихся погодных условиях.* Установлено, что семенная продуктивность растений различается как в градиенте загрязнения, так и при разных погодных условиях. В период с 2000 по 2008 гг. в каждой ценопопуляции методом случайной выборки ежегодно посемейно собирали семянки с 35–75 растений *f. dahlstedtii* и *f. pectinatiforme*. У каждого растения определяли общее число семян в корзинке (анализировали 3–4 корзинки) и число семян с выполненными семенами, массу 1000 шт. семян, среднюю семенную продуктивность (общее число семян на растении), реальную семенную продуктивность (число семян с выполненными семенами на растении).

Проведен дискриминантный анализ совокупности показателей семенной продуктивности отдельно для растений каждой формы на каждом участке. В качестве группи-

рующей переменной выступал год. Средние квадраты расстояний Махаланобиса у обеих форм одуванчика на фоновых участках совпадают. При среднем уровне химического загрязнения более резко на изменение условий сезона реагирует *f. dahlstedtii*, на импактном – *f. pectinatiforme*.

*Показатели жизнеспособности семенного потомства.* Оценку жизнеспособности семенного потомства проводили методом корневого теста в рулонной культуре на дистиллированной воде. В качестве показателей жизнеспособности приняты: энергия прорастания, всхожесть семян, их выживаемость на 30 суток, листообразование и длина корней проростков на 30-е сутки. Жизнеспособность потомства одуванчика в разные годы может различаться. Дискриминантный анализ совокупности показателей жизнеспособности потомства одуванчика, проведен отдельно для каждой формы на каждом участке. В качестве группирующей переменной принят год исследования. Показано, в выборках *f. dahlstedtii* и *f. pectinatiforme* из ценопопуляции фонового участка средние значения квадратов расстояний Махаланобиса близкие, а в условиях загрязнения у *f. dahlstedtii* они остаются на уровне фоновых, у второй формы резко возрастают. Последнее свидетельствует о том, что реакция на погодно-климатические факторы у *f. dahlstedtii* и *f. pectinatiforme* в ценопопуляции фоновой зоны сходна, а из импактной – различна.

*Металлоустойчивость потомства.* Оценку металлоустойчивости потомства проводили в рулонной культуре методом корневого теста. Использовали водные растворы солей  $ZnSO_4$  (300 мг/л),  $CuSO_4$  (100 мг/л),  $PbNO_3$  (300 мг/л) и  $CdSO_4$  (3 мг/л). Показатели жизнеспособности оценивали как отношение длины корней у проростков на растворе с металлом к таковому на растворе без солей металлов.

Выживаемости проростков из ценопопуляций фонового и импактного участков при провокации раствором  $ZnSO_4$  у *f. dahlstedtii* из фоновой ценопопуляции и проростков *f. pectinatiforme* из импактной значимо выше (фон:  $F(1; 298) = 11.4; p < 0.001$ ; импакт:  $F(1; 298) = 25.2; p < 0.001$ ). В условиях провокации  $Pb(NO_3)_2$  выживаемость потомства *f. pectinatiforme* с импактного участка значимо отличается от *f. dahlstedtii* ( $F(1; 298) = 13.2; p < 0.001$ ). Аналогичная картина показана по показателям листообразования.

Установлено, что индекс металлоустойчивости у *f. dahlstedtii* закономерно снижается по мере увеличения токсической нагрузки в местах произрастания материнских растений. Аналогичный показатель у второй формы имеет обратную тенденцию.

В экспериментах регистрировали долю проростков, имеющих некротические поражения апикальной меристемы, корневой шейки и всего корня. Доля проростков, имеющих некротические поражения, у *f. dahlstedtii* с загрязненных участков выше, чем у *f. pectinatiforme* и возрастает в градиенте загрязнения. Процессы репарации (появление боковых корешков в случае поражения апикальной меристемы корня) активнее протекают у *f. pectinatiforme*. Влияние токсической нагрузки в местах формирования потомства на результирующие признаки статистически значимо (повреждение корней:  $F(4; 20) = 2.7-11.4; p < 0.05-0.001$ ; восстановление:  $F(4; 20) = 3.1-31.9; p < 0.05-0.001$ ).

Таким образом, реакция двух форм одуванчика на пессимальные факторы среды (токсическое воздействие и погодно-климатические) различна. Исследуемые популяционные параметры *f. dahlstedtii* и *f. pectinatiforme* в градиенте увеличивающейся токсической нагрузки чаще всего имеют разнонаправленный характер. Максимальные различия проявляются по показателям морфологической структуры, а также по процессам поражения корневых систем проростков и интенсивности их восстановления.

Полученная разнонаправленность реакции форм одного вида на химический стресс отражает разнокачественность популяционной структуры вида и ее роль в поддержании стабильности растительных ценопопуляций при токсическом загрязнении

среды. Наряду с этим есть популяционные параметры, по которым различия между формами незначимы. Вероятно, такие параметры не играют существенной роли в поддержании устойчивости популяций в условиях химического загрязнения. Наличие в исследуемых ценопопуляциях двух морфологических форм одуванчика, обладающих разной реакцией на погодно-климатические условия, разной семенной продуктивностью и жизнеспособностью потомства, а также металлоустойчивостью позволяет удерживать устойчивые позиции вида *T. officinale* в сообществах как фоновой, так и химически загрязненных территорий.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (госконтракт № 5.5329.2011) и РФФИ (проекты № 13-04-00915, 13-04-96037), Программы Научных школ (контракт НШ-5325.2012.4), Президиума РАН (проект № 12-П-4-1057), и УрО РАН (проект 12-М-23457-2041).

#### Литература

Глотов Н.В. Оценка генетической гетерогенности природных популяций: количественные признаки // Экология, 1983. – № 1. – С. 3–10.

Глотов Н.В., Тараканов В.В. Норма реакции генотипа и взаимодействие генотип – среда в природной популяции // Журн. общ. биол., 1985. – Т. 46. – № 6. – С. 760–770.

Четвериков С.С. О некоторых моментах эволюционного процесса с точки зрения современной генетики // Журн. эксперим. биол., 1926. – Сер. А. – Т. 2. – № 4. – С. 3–54.

### ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ LONICERA CAERULEA БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛОКАЛЬНЫХ ЗОНАХ ГЕОЛОГИЧЕСКОЙ НЕОДНОРОДНОСТИ (ГОРНЫЙ АЛТАЙ)

И.Г. Боярских<sup>1</sup>, В.Г. Васильев<sup>2</sup>, Т.А. Кукушкина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ЦСБС СО РАН, Новосибирск, irina\_2302@mail.ru

<sup>2</sup>НИОХ СО РАН, Новосибирск, vgvasil@nioch.nsc.ru

Горный Алтай относится к территориям с высокой сейсмотектонической активностью. В пределах зон сейсмоактивных разломов возникают локальные геофизические и геохимические аномалии, которые вызывают широкий спектр ответных реакций у биоты. Проведенные нами ранее исследования показали, что в пределах сейсмоактивных зон Горного Алтая в популяциях *Lonicera caerulea* L. (жимолость синяя), широко распространенной в горных районах, наблюдаются увеличение вариабельности морфологических и биохимических признаков, нарушения в репродуктивной сфере и появление тератных форм. Здесь же в листьях жимолости наблюдалось и более интенсивное накопление биологически активных фенольных соединений. Самым значительным было увеличение хлорогеновой и дикофеилхинной кислот и гликозидов лютеолина – основных фенольных соединений, характерных для листьев жимолости [Боярских, и др., 2011, 2012]. Это позволило предположить, что геохимические и геофизические аномалии, возникающие в пределах локальных тектонически активных зон могут оказывать выраженное влияние на процессы метаболизма в растениях.

Сведения о содержании биологически активных веществ в листьях *L. caerulea* практически отсутствуют. Между тем фенольные соединения, содержащиеся в фотосинтетических тканях растений выполняют достаточно широкий круг функций, одной из которых является защитная. Флавоноиды и особенно гидроксикоричные кислоты (ГКК) за счет способности дезактивировать активные формы кислорода, предотвращают развитие окислительного стресса и повреждение фотосинтетического аппарата [За-

прометов, 1996]. Данная работа была выполнена с целью выявления особенностей накопления флавоноидов и ГКК в листьях и плодах *L. caerulea* в зонах геологической неоднородности в различных эколого-географических условиях Горного Алтая.

В 2010–2011 гг. нами было проведено изучение геоэкологических условий и биохимической адаптивной реакции растений на их изменения в сейсмоактивных зонах Горного Алтая. Исследования проводились в долине р. Курайка (Кубадринский глубинный подновляющийся разлом), в долине р. Ак-Туру (в месте пересечения её разломом на границе Северо-Чуйского хребта и Курайской межгорной впадины), в узлах сочленения Джазаторского разлома с активными разломами более низкого иерархического ранга в устьевых участках притоков р. Джазатор – реки Ильдыгем, Узургу, Тюнь, а также районе слияния рек Ак-Алахи и Аргута. Для отбора растительных образцов на каждом участке выбирались площадки геоботанически сходные, но различающиеся по геоэкологическим показателям. Для приготовления средней пробы плоды и листья собирали с 20–30-ти растений на каждой площадке. Содержание флавоноидов и ГКК в листьях и плодах определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

На основании данных сравнительного анализа времени удерживания пиков вещества на хроматограммах анализируемых и стандартных образцов, а также компьютерного сравнения спектров поглощения, полученных при хроматографировании пиков, с имеющейся у нас библиотекой, выявлено наличие в экстрактах листьев жимолости производных ГКК – хлорогеновой и дикофеилхинной кислот, рутина, а также присутствие в большом количестве производных лютеолина, апигенина и кверцетина.

Основные компоненты плодов жимолости синей это антоцианы, флавонолы, флавоны, производные ГКК и катехины. В группе антоцианов основным является цианидин-3-гликозид; в группе флавонолов – гликозиды кверцетина; в группе флавонов – гликозиды лютеолина; в группе ГКК – хлорогеновая, неохлорогеновая и дикофеилхинная кислоты.

**Таблица**

**Содержание отдельных классов фенольных соединений (ФС)  
в плодах *L. caerulea* из популяций Горного Алтая (мг/100г воздушно сухой массы).**

Популяции		Сумма ГКК	Сумма флаванолов	Сумма флавонов	Сумма антоцианов	Сумма ФС
Ак-Туру	Аномалия-1	419	161	55	1280	1915
	Контроль-2	71	52	59	353	535
	Контроль-1	187	103	100	881	1272
Джазатор	Тюнь-А	419	100	35	1719	2273
	Тюнь-К	162	57	46	1074	1339
	Ильдыгем-А	325	56	19	1042	1441
	Ильдыгем-К	198	32	22	886	1139
	Аргут-А	618	109	146	2578	3450
	Аргут-К	292	69	172	832	1366
В-Уймон	Аномалия МП	376	162	134	3096	3768
	Контроль	56	22	17	494	589
	Вост.скл.	514	171	81	2192	2958
	Западн.скл.	204	29	8	1062	1303
	Лог	81	25	18	311	434
Курайка	Аномалия-1	987	206	102	2126	3421
	Аномалия-2	412	104	97	1326	1938
	Аномалия-3	562	148	126	2159	2995
	Контроль	186	57	23	1025	1291

Сравнительный анализ хроматограмм экстрактов листьев и плодов *L. caerulea*, отобранных в разных популяциях, показал сходный качественный состав по основным индивидуальным компонентам флавоноидов и ГКК. Состав минорных компонентов изменялся в зависимости от места произрастания *L. caerulea*. В экстрактах плодов апингенин в минорном количестве присутствовал только в одной из 30-ти изученных популяций жимолости и в шести отмечен его гликозид. В экстрактах листьев лютеолин отмечен в 10 средних пробах.

Количественные показатели индивидуально-группового состава биологически активных веществ имели значительные различия в зависимости от места нахождения популяций. В пределах одной популяции между площадками, находящимися в 20–200 м друг от друга, в экстрактах из плодов и листьев *L. caerulea* наблюдалась значительная разница по содержанию классов фенольных соединений (табл.), а также отдельных компонентов.

На всех изученных участках отмечалось значительное (в 3 и более раз) увеличение содержания антоцианов и ГКК в плодах *L. caerulea*, собранных на площадках находящихся, в локальных зонах дизъюнктивных нарушений геологических структур. Эти зоны характеризуются специфическими для каждого участка комплексами геофизических и геохимических аномалий – повышенной концентрацией ртути в приземном и почвенном воздухе (Курайка), изменением элементного и изотопного состава почв (Джазатор, Ак-Туру, В-Уймон), а также величины индукции магнитного поля (В-Уймон) по сравнению с контрольными площадками. В листьях часто прослеживается отличная от плодов реакция на изменения среды. Если в плодах растений из локальных геологических аномалий на всех исследуемых участках содержание фенольных соединений увеличивалось в 2–6 раз, то в листьях в большинстве случаев напротив, уменьшается в 1,5–2 раза по сравнению с растениями в фоновых условиях. На отдельных участках под воздействием определенных комплексов геофизических и геохимических аномалий наблюдалось увеличение накопления флавоноидов и ГКК, как в листьях, так и в плодах растений.

Известно, что ГКК являются наиболее перспективными соединениями, повышенная концентрация которых может служить мерой устойчивости к окислительному стрессу [Larson, 1988]. В фоновых условиях концентрация производных ГКК в листьях растений может быть более чем в 50 раз больше чем в плодах. В зонах аномалий накопление соединений этого класса в листьях и плодах становится практически одинаковым (рис). Вероятно, именно с защитной функцией этих соединений связано усиление их биосинтеза в репродуктивных органах и снижение в вегетативных, либо это следствие более интенсивного оттока ассимилянтов из листьев в аттрагирующие органы (плоды).

Оценка популяционной изменчивости содержания фенольных соединений в органах *L. caerulea* в условиях Горного Алтая показала, что эндогенные геофизические и геохимические аномалии в локальных геоактивных зонах могут оказывать выраженное влияние на накопление отдельных групп и индивидуальных компонентов флавоноидов и ГКК в плодах и листьях жимолости синей. Это проявляется в появлении популяций *L. caerulea* с высоким полиморфизмом биохимических признаков. Выделенные популяции могут быть источником для отбора ценных для введения в культуру форм. При сборе пищевого и лекарственного сырья на этих участках необходимо учитывать возможность более интенсивного накопления в органах растений химических и радиоактивных элементов.



Рис. Отношение между содержанием ГKK в листьях и плодах *L. caerulea*.

#### Литература

Боярских И.Г., Васильев В.Г., Кукушкина Т.А. Изменение метаболизма *Lonicera caerulea* L. в тектонически активной зоне Горного Алтая (Северо-Чуйский хр.) // Растительный мир Азиатской России, 2011. – №2. – С. 114–119.

Боярских И.Г., Сысо А.И., Худяев С.А., Бакиянов А.И., Колотухин С.П., Васильев В.Г., Чанкина О.В. Особенности элементного и биохимического состава *Lonicera caerulea* в локальной геологически активной зоне Катунского хребта (Горный Алтай) // Геофизические процессы и биосфера, 2012. – №3. – С. 70–84.

### СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКОСИСТЕМ СОСНОВЫХ ЛЕСОВ НА ОБРАТИМОЙ СТАДИИ АНТРОПОГЕННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ

С.А. Бузмаков, Д.Н. Андреев

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, andreev@psu.ru

Теоретические разработки в области ландшафтно-экологических исследований (ландшафтоведение, биогеоценология, ландшафтная экология, биогеография, экологическая география) в современных условиях оказались в едином русле концептуального развития. По крайней мере, провозглашаемые цели этих отраслей естествознания если не близки, то весьма сходны между собой. Это происходит вне зависимости от используемой терминологии и приоритета той или иной отрасли знания (экологии, географии, биогеоценологии) [Громцев, 2008].

При любой трактовке теоретических подходов в данных научных направлениях генеральной целью исследований фактически признается создание единого универсального учения об иерархическом структурно-функциональном устройстве природных систем. Только на этой основе возможно организовать природопользование таким образом, чтобы оно было «встроено» в природную организацию территории и в целом это была бы единая, устойчиво функционирующая система. Она будет функционировать в режиме, наиболее эффективно воспроизводящем или сохраняющем для человека комплекс природных ресурсов и условий при максимально возможном объеме их использования, без значительного ущерба для этого режима [Громцев, 2008].

Антропогенная трансформация природной среды – процесс изменения природных компонентов и комплексов под воздействием производственной и любой другой деятельности людей. Преобразование экосистем вызывается совокупностью экологических и биогеохимических процессов, связанных с деятельностью людей, направленной



на перемещение, извлечение из окружающей среды, концентрацию и перегруппировку минеральных и органических соединений, сопровождается изменением природных компонентов, приводит к нарушению метаболизма, функционированию и структуры исходных экосистем, вплоть до перехода их в результате смен состояний (фаз) из ряда биогенных в абиогенные [Бузмаков, 2012].

Диагностика обратимой стадии антропогенной трансформации природной среды позволяет выявить начальные изменения состояния природных компонентов и комплексов. По результатам такой диагностики разрабатываются природоохранные мероприятия, проведение которых позволяет оптимизировать состояние природной среды и предотвратить ее деградацию.

На сегодняшний день существует множество методов индикации антропогенной трансформации природной среды, однако большинство из них не могут выявить нарушения в экосистеме на ранней стадии изменения ее экологического состояния [Григорьев, 2005]. Особенно важна информация о влиянии концентраций химических элементов в экосистеме на биологические объекты.

Диагностика трансформации экосистем может выполняться методом сравнения сходных экосистем, находящихся под влиянием различной антропогенной нагрузки [Дончева и др., 1992].

В данной работе в качестве объекта исследования выбраны экосистемы сосновых лесов на особо охраняемых природных территориях «Черняевский лес» и «Осинская лесная дача». Охраняемый природный ландшафт местного значения «Черняевский лес» (площадь – 685,97 га) представляет собой лесной массив, который находится практически в центре г. Перми, в окружении жилых районов. В качестве фоновой территории принят охраняемый ландшафт регионального значения «Осинская лесная дача» (площадь – 12168 га), расположенный почти в 100 км к юго-западу от г. Перми.

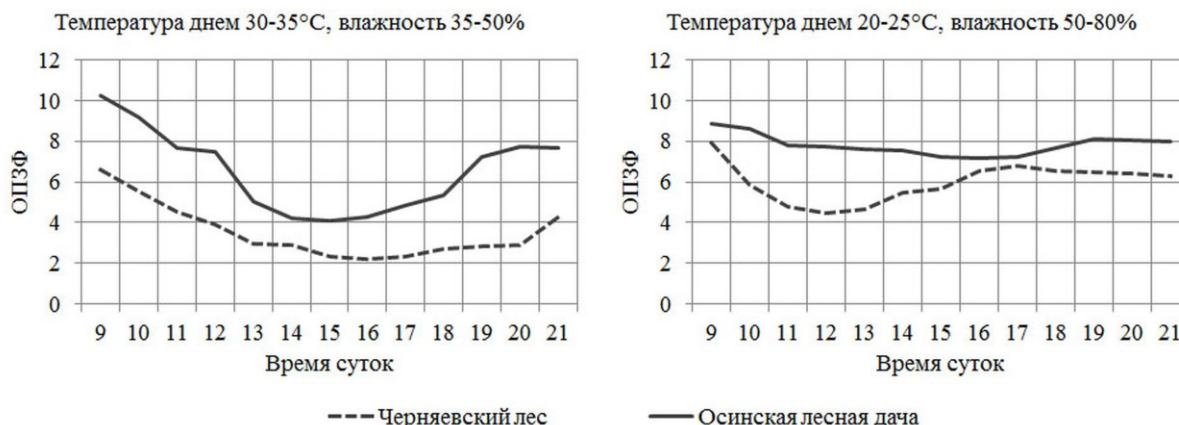
Работа выполнена на основе синтеза различных научных подходов по «Методике комплексной диагностики антропогенной трансформации особо охраняемых природных территорий», разработанной на кафедре биогеоценологии и охраны природы Пермского университета [Андреев, 2012]. В исследовании выполнялось: оценка деградации экосистем; геоботанические описания растительности; измерение лесотаксационных параметров; определение физиологического состояния растительности по флуоресценции хлорофилла хвои сосны обыкновенной; определение геохимических параметров; ландшафтная индикация.

В работе использован метод регистрации относительного показателя замедленной флуоресценции (ОПЗФ) с помощью флуориметра «Фотон-10». Принцип регистрации показателя заключается в том, что измерение свечения каждого образца проводится для двух заранее установленных световых и временных режимов, условно обозначенных как «режим высокого света» и «режим низкого света» [Григорьев, 2005].

На флуоресценцию хлорофилла напрямую влияют абиотические факторы внешней среды, поэтому в рамках работы составлены графики среднего суточного изменения ОПЗФ на исследуемых территориях в зависимости от температуры и влажности воздуха (рис. 1).

В период дневной фотосинтетической депрессии в жаркую и сухую погоду ОПЗФ снижается до 2 на модельном участке в Черняевском лесу и до 4 – в Осинской лесной даче. В утреннее и вечернее время наблюдаются наибольшие отличия. При низких температурах и высокой влажности значительные отличия наблюдаются в период с 10 часов утра до 15 часов дня. Дневное изменение флуоресценции хлорофилла на модельном участке в Осинской лесной даче принято за фон при оценке фотосинтетической активности ассимиляционных органов сосны обыкновенной на пробных площадках обеих ООПТ. В среднем по площадкам Осинской лесной дачи значение ОПЗФ меньше на 8%

(±4%) от фона. В среднем по площадкам Черняевского леса значение ОПЗФ меньше на 25% (±3%) от фона.



**Рис. 1. Дневное изменение относительного показателя флуоресценции хлорофилла при разных погодных условиях.**

По результатам геохимического анализа выявлены общие геохимические особенности исследуемых территорий, а также отличия, вызванные антропогенными факторами. В экосистемах сосновых лесов антропогенное воздействие приводит к накоплению в почве Pb, Zn, Cu, Mn, Ba, Sn, Zr и Ag, а в хвое сосны обыкновенной Ni, Cr, V, Ti, Cu и Ga.

Для определения продуктивности экосистем сосновых лесов рассчитан вегетационный индекс NDVI. Максимальная величина NDVI является индикатором максимального количества биомассы растительного покрова [Козодеров, Кондранин, 2008]. Среднее значение вегетационного индекса NDVI для сосновых экосистем по пробным площадкам Черняевского леса составляет 0,62 (±0,1), а Осинской лесной дачи – 0,67 (±0,1). Тем самым на фоновой территории данный показатель выше на 0,05, что считается существенным, т.к. для сосновых древостоев характерно стандартное значение вегетационного индекса от 0,6 до 0,7.

По результатам исследования составлен перечень показателей, по которым, при проведении комплексного исследования, можно определить раннюю (обратимую) стадию антропогенной трансформации природной среды:

1. Физиологические: флуоресценция хлорофилла хвои сосны обыкновенной.
2. Геохимические: содержание Pb, Zn, Cu, Mn, Ba и других микроэлементов в почве; содержание Ni, Cr, V, Ti, Cu и других микроэлементов в хвое сосны обыкновенной; биологическое поглощение V, Ti, Ni; суммарное загрязнение почв.
3. Ландшафтно-индикационные: деградационно-восстановительная фаза экосистем; временная динамика биогеоценотического покрова; вегетационные особенности растительности, регистрируемые дистанционно.

По итогам диагностики структурно-функциональных отличий идентичных экосистем сосновых лесов предложены природоохранные мероприятия, которые позволят оптимизировать состояние ООПТ и уменьшить воздействие на них антропогенных факторов.

#### Литература

Андреев Д.Н. Методика комплексной диагностики антропогенной трансформации особо охраняемых природных территорий // Географический вестник. – Пермь, 2012. – № 4 (32). – С. 4–10.

Бузмаков С.А. Антропогенная трансформация природной среды // Географиче-

ский вестник. – Пермь, 2012. – № 4 (32). – С. 46–50.

Григорьев Ю.С. Флуоресценция хлорофилла в биоиндикации загрязнения воздушной среды // Вест. Междунар. академии наук экологии и безопасности жизнедеятельности (МАНЭБ), 2005. – Т. 1. – № 4. – С. 77–91.

Громцев А.Н. Основы ландшафтной экологии европейских таежных лесов России. – Петрозаводск: Карельский науч. центр РАН, 2008. – 238 с.

Дончева А.В., Казакова Л.К., Калуцков В.Н. Ландшафтная индикация загрязнения природной среды. – М.: Экология, 1992. – 256 с.

Козодеров В.В., Кондранин Т.В. Методы оценки состояния почвенно-растительного покрова по данным оптических систем, систем дистанционного аэрокосмического зондирования: учебное пособие. – М.: МФИТИ, 2008. – 222с.

## **ЭНДОГЕННОЕ ОБРАЗОВАНИЕ НИТРАТОВ В ТКАНЯХ РАЗЛИЧНЫХ РАСТЕНИЙ В СТЕРИЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ**

И.В. Верниченко

РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, larisa.vern@gmail.com

До настоящего времени общепризнанным является мнение, что единственным источником нитратов в растениях служат поглощаемые ими экзогенные ионы  $\text{NO}_3^-$ , но следует отметить, что даже при полном подавлении процесса микробиологической нитрификации и питания растений только восстановленными формами азота, нельзя исключить возможности появления в тканях растений азота в нитратной форме. В начале наших исследований по данной проблеме было показано, что при внесении меченного  $^{15}\text{N}$  аммонийного азота в некорневую подкормку, когда исключался его контакт с почвой, существенная часть внесенной метки через несколько часов после начала поступления обнаруживалась в растениях в нитратной форме, что указывало на возможность окисления восстановленных форм азота в тканях растений до нитратов.

Аналогичные данные были получены в опытах с растениями томатов и кукурузы в условиях песчаных культур с одновременным внесением с меченым аммонийным азотом и ингибиторов нитрификации.

Доказательства того, что процесс эндогенного окисления поступившего в растения азота  $^{15}\text{NH}_4^+$  до  $^{15}\text{NO}_3^-$  связан с ферментативной активностью именно растительных тканей, были получены на основании результатов стерильных опытов, а также исследований проведенных с использованием культуры тканей, в которых внесенный меченый аммонийный азот через сравнительно короткие экспозиции (от 2-х до нескольких суток) был обнаружен в составе выделенных из растений нитратов [Ягодин, Верниченко, 1982; Верниченко, 2002].

Обобщая выше изложенное, мы считаем доказанным факт эндогенного окисления восстановленных соединений азота в тканях растений до нитратов. Биологическая целесообразность образования нитратов в растениях, по-видимому, может быть обусловлена несколькими причинами. Одним из объяснений обнаруженного явления может быть процесс детоксикации повышенного содержания свободного аммония в тканях растений. Однако в наших опытах данный процесс отмечался и при минимальной дозе внесения аммонийного азота (1/5 от смеси Прянишникова), то есть в отсутствии избытка азота. По-видимому, необходимость образования нитратов в тканях растений диктуется также и другими причинами.

Так в последние годы публикуются данные, указывающие на то, что роль нитрат-

ной формы азота для питания растений не ограничивается тем, что нитраты являются промежуточной и запасной формой азота для синтеза сложных органических соединений, а имеют свое, безусловно незаменимое физиологическое значение. Анализ литературных данных по этой тематике показывает, что, по крайней мере 3 группы факторов могут объяснить физиологическую роль нитратной формы азота для растений.

Первое, нитраты необходимы для оптимального прохождения процесса фотосинтеза, так как образованные при их редукции нитриты служат акцепторами электронов в хлоропластах. Второе, нитраты улучшают процессы дыхания, так как служат акцепторами электронов в митохондриях растительных клеток.

И третье, в последние 10 лет показано, что молекулы  $\text{NO}_3^-$  являются клеточным сигналом (или сигналингом) для начала работы (экспрессии) определенных генов растений. Давно известно, что нитраты индуцируют синтез нитратредуктазы, то есть было показано, что для синтеза белковой составляющей этого фермента необходимо наличие нитратов и имелся определенный лаг-период для проявления его активности. В настоящее время с помощью дефицитных по нитратредуктазе мутантов и других современных методик доказан аналогичный сигнальный эффект нитратов не только для нитратредуктазы, но и для более чем 100 растительных генов, которые контролируют не только процессы переноса и редукции нитратной формы азота, но и дальнейшего синтеза белка, ассимиляции аммонийного азота, синтеза антистрессовых белков и ряд других процессов. Следовательно, если в среде нитратов нет или их недостаточное количество, растению для того чтобы запустить работу необходимых генов, по-видимому, нужно их образовать путем эндогенного окисления восстановленных форм азота.

И еще одна возможная причина образования нитратов в растительных тканях связана с ролью нитратной формы азота в повышении устойчивости растений к различным неблагоприятным факторам внешней среды, что имеет в настоящее время большое практическое значение. Причем механизм влияния нитратов на увеличение толерантности растений к различным стрессорам может быть прямым или косвенным, связанным с метаболизмом другой сигнальной молекулы, во многом определяющей устойчивость растений к различным стрессам – окиси азота. В последние годы установлено, что синтез молекул NO в растениях может происходить двумя путями. Во-первых, путем окисления аргинина под действием фермента NO-синтазы. Во-вторых, образование молекул NO в растениях происходит в результате восстановления азота нитратов с участием ферментов нитрат- и нитритредуктаз.

Нами было сделано предположение, что под действием отдельных стрессоров может возрасти потребность растений в нитратах, необходимых как для инициации синтеза различных соединений обладающих антистрессовой активностью, так и в качестве предшественника для синтеза молекул NO, и как следствие будет стимулироваться процесс их эндогенного образования.

Для доказательства этого предположения были поставлены стерильные опыты, в которых выяснялось влияние различных неблагоприятных условий на эндогенное образование нитратов при прорастании семян отдельных культур (пшеницы, кукурузы, сои и гороха). Известно, что в семенах исходное количество нитратов обычно очень низкое и их может не хватать для инициации активности определенных генов обуславливающих синтез необходимых соединений. Стерильные проростки опытных культур в течение 3-х суток подвергались воздействию неблагоприятных факторов (засуха, повышенная температура, засоление  $\text{NH}_4\text{Cl}$  или  $\text{NaCl}$ ).

Полученные результаты подтвердили наличие процессов эндогенного образования нитратов в растениях, их содержание в проростках было существенно выше, чем в исходных семенах и зависело от внешних факторов. В условиях данных опытов максимальное увеличение скорости эндогенного образования нитратов в растениях под вли-

янием испытанных стрессоров было отмечено под действием засоления NaCl, в то время как аналогичная концентрация NH<sub>4</sub>Cl увеличивала скорость окисления азота в растениях в значительно меньшей степени. Среди опытных культур наиболее заметное стимулирующее влияние засоления на образование NO<sub>3</sub><sup>-</sup> было отмечено у растений кукурузы.

Физиологический смысл и механизм процесса окисления азота в тканях растений еще предстоит выяснить в дальнейших исследованиях, необходимость которых диктуется немалым практическим значением и, несомненно, большой теоретической важностью, так как решение этих вопросов расширяет наши представления о путях превращения азота в растениях.

#### Литература

Верниченко И.В. Эндогенное образование нитратов в растениях // Агрохимия, 2002. – № 4.

Ягодин. Б.А., Верниченко И.В. Возможность окисления аммонийного азота в тканях растений до нитратов (опыты с <sup>15</sup>N) // Известия АН СССР, серия биологическая, 1984. – № 2. – С. 266–280.

### **ИЗМЕНЕНИЯ В НАПОЧВЕННОМ ПОКРОВЕ СОСНЯКА БРУСНИЧНОГО ПОСЛЕ УСЫХАНИЯ ЧАСТИ ДРЕВОСТОЯ**

Н.В. Геникова

Институт леса КарНЦ РАН, Петрозаводск, mylazydays@mail.ru

Древесный ярус в лесном сообществе оказывает средообразующее влияние на растения нижних ярусов [Лашинский, 1975; Карпачевский, 1977; Волокитина, 1979; Демьянов, 1982 и др.].

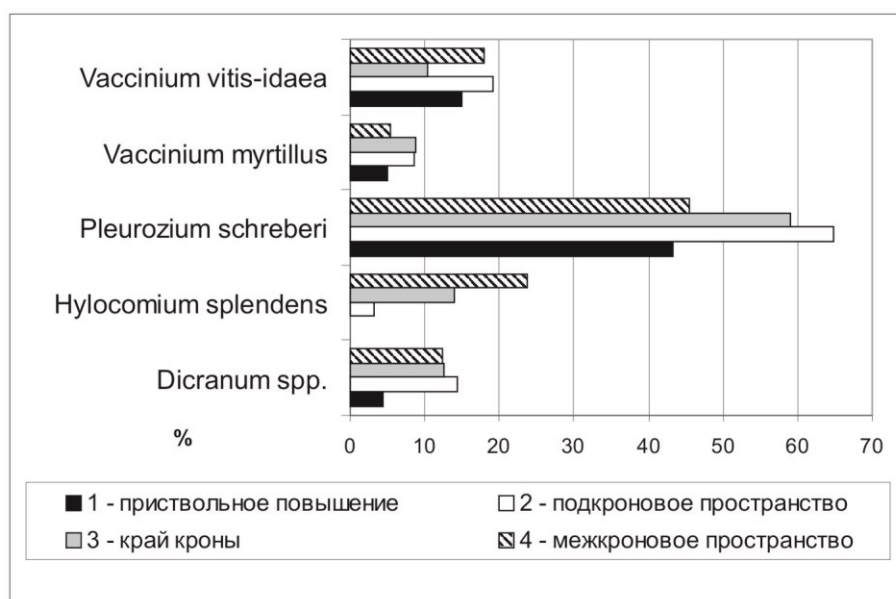
С целью изучения изменений в растительном покрове лесного сообщества после усыхания части древостоя нами была исследована структура напочвенного покрова двух участков сосняка брусничного 120 лет, отличающихся состоянием древесного яруса. Исследования проводились в заповеднике «Кивач» (подзона средней тайги). Пробная площадь №1 представляла собой ненарушенное сообщество, на втором участке (пробная площадь №2) примерно 15–20 лет назад постепенно усохло более половины деревьев.

Для описания напочвенного покрова от отдельно стоящих деревьев закладывались трансекты из площадок размером 20x50 см. На каждой площадке проводилось описание проективного покрытия видов мохово-лишайникового и травяно-кустарничкового ярусов. Данные о проективном покрытии отдельных видов разбивались на 4 группы, соответствующие 4 зонам фитогенного поля (приствольное повышение, подкروновое пространство, зона границы кроны, межкroновое пространство) [Крышень, 1998]. На основе полученных данных с помощью дисперсионного анализа выявлялась достоверность различий значений обилия видов напочвенного покрова, общих для двух пробных площадей. Также был проведен дисперсионный анализ варьирования проективного покрытия мхов, лишайников, травянистых растений и кустарничков по зонам фитогенного поля по методике, предложенной В.С. Ипатовым и Л.А. Кириковой [1977]. Кроме того, для каждой пробной площади для каждой пары видов были вычислены коэффициенты сопряженности Коула с использованием 4-хпольной таблицы присутствия-отсутствия видов [Василевич, 1969] и построены корреляционные плеяды видов.

При сравнении двух пробных участков можно отметить следующие различия. Растительный покров первого сообщества представлен 3 видами травяно-кустарничкового яруса (*Calluna vulgaris*, *Vaccinium vitis-idaea*, *V. myrtillus*) и 7 видами мохово-лишайникового яруса (*Dicranum polysetum*, *Hylocomium splendens*, *Pleurozium schreberi*, *Ptilium crista-castrensis*, *Cetraria islandica*, *Cladonia arbuscula*, *C. rangiferina*). В сообществе с наличием сухих деревьев количество видов напочвенного покрова ниже. Отсутствуют виды (*Cetraria islandica*, *Cladonia rangiferina*, *Calluna vulgaris*), которые и в первом сообществе обладают невысокими значениями обилия и встречаемости. Наряду с уменьшением общего количества видов напочвенного покрова в нарушенном сообществе произошло снижение обилия всех оставшихся видов кроме *Pleurozium schreberi*, который в соседнем фитоценозе также является доминантом растительного покрова. Так, достоверно ниже проективное покрытие *Vaccinium vitis-idaea*, *Hylocomium splendens*, а также видов рода *Dicranum*.

Тем не менее, напочвенный покров нарушенного сообщества сохраняет сходство состава и обилия видов с соседним участком сосняка брусничного, таким образом, можно заключить, что древесный ярус до некоторой степени сохраняет свое влияние, тогда как после рубки сходного сообщества смена кустарничков и зеленых мхов на злаки и травянистую растительность происходит за несколько лет [Набатов, 1964]. К тому же микрорельеф, оказывающий большое влияние на формирование мозаичности растительного покрова, долгое время сохраняется после усыхания дерева [Маслов, 1990].

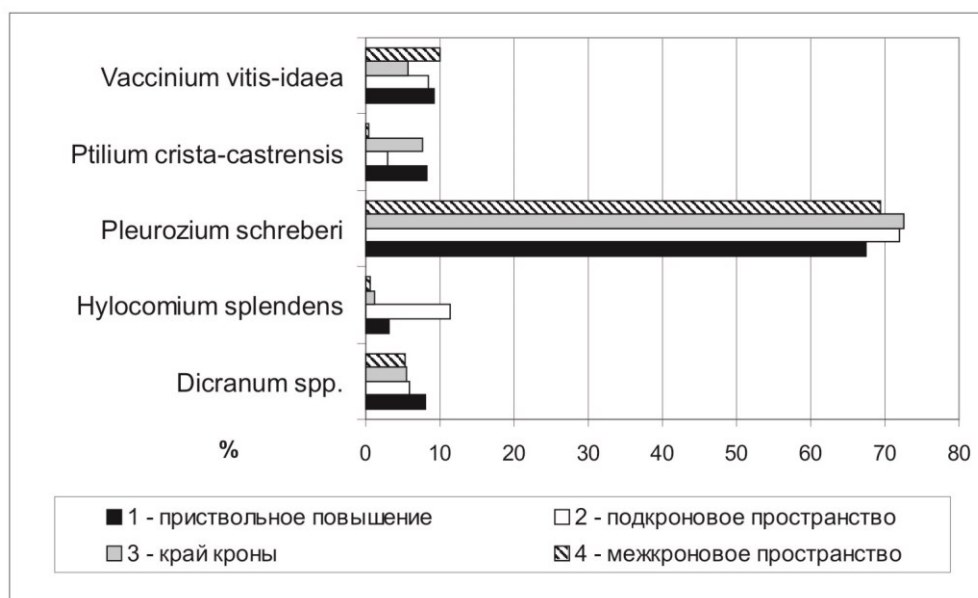
Анализ варьирования значений проективного покрытия видов по зонам фитогенного поля показал, что варьирование обилия видов более выражено в ненарушенном фитоценозе (пробная площадь №1) (рис. 1, 2).



**Рис. 1. Варьирование среднего проективного покрытия видов напочвенного покрова по зонам фитогенного поля для ненарушенного сосняка брусничного.**

В нарушенном сосняке происходит усреднение проективного покрытия видов, это, видимо, связано с тем, что стираются границы между зонами фитогенного поля по причине выравнивания условий освещенности и увлажнения под деревьями, практически лишенными крон. На участке с сухими соснами ни один вид напочвенного покрова не показал достоверной реакции на влияние древесного яруса. В лесном участке без сухостоя отмечено уже 5 видов с достоверными отличиями проективного покрытия по

зонам фитогенного поля.



**Рис. 2. Варьирование среднего проективного покрытия видов лишайного покрова по зонам фитогенного поля для сосняка брусничного с наличием сухих сосен в древостое.**

Анализ коэффициентов сопряженности показал, что число видов, входящих в корреляционные отношения с другими видами минимально в сообществе с сухими соснами. В ненарушенном сосняке сопряженными являются большинство видов (7 из 10), в сухостойном – всего 2 из 7. В первом сообществе все 10 связей имеют положительный характер, в сообществе с преобладанием сухих сосен отмечена одна отрицательная связь (*Vaccinium vitis-idaea* и *Hylocomium splendens*). Данные о сопряженности видов на двух пробных площадях дополняют результаты дисперсионного анализа, не показавшего достоверных различий колебаний обилия видов по мере удаления от дерева в нарушенном сообществе, а также согласуются с диаграммой варьирования среднего проективного покрытия по зонам фитогенного поля, на которой видна сглаженность колебаний обилия видов на той же пробной площади.

Таким образом, наблюдение изменений в лишайном покрове в связи с усыханием части деревьев в лесном сообществе показало, что разрушение древостоя вызывает заметное изменение структуры лишайного покрова, которое выражается в уменьшении количества видов, изменении соотношения видов мхов, уменьшении взаимосвязей между оставшимися видами и в отсутствии четких границ между зонами фитогенного поля.

#### Литература

- Василевич В.И. Статистические методы в геоботанике. – Л.: Наука, 1969. – 232 с.
- Волокитина А.В. Особенности распределения дождевых осадков под пологом хвойного леса // Лесоведение. 1979. – №2. – С. 40–48.
- Демьянов В.А. Влияние *Larix gmelinii* (Pinaceae) на строение растительного покрова на верхней границе древесной растительности // Бот. журн., 1982. – Т.67. – №4. – С. 500–507.
- Ипатов В.С., Кирикова Л.А. Применение дисперсионного анализа при исследовании связи растительности со средой // Бот. журн., 1977. – Т.62. – №10. – С. 1441–1445.
- Карпачевский Л.О. Пестрота почвенного покрова в лесном биогеоценозе. Изд-во Моск. ун-та., 1977. – 312 с.

Крышень А.М. К методике изучения фитогенных полей деревьев // Бот. журн., 1998. – Т.83. – №10. – С.133–142.

Лашинский Н.Н. О влиянии деревьев на структуру травостоя в травяных борах Нижнего Приангарья // Бот. журн., 1975. – Т.60. – №12. – С. 66–73.

Маслов А.А. Количественный анализ горизонтальной структуры лесных сообществ. – М.: Наука, 1990. – 160 с.

Набатов Н.М. Динамика живого напочвенного покрова и его влияние на рост культур сосны // Бот. журн., 1964. – Т.49. – №5. – С. 669–675.

## **ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ НАПОЧВЕННОГО ПОКРОВА НЕКОТОРЫХ КОРЕННЫХ И ПРОИЗВОДНЫХ (ПОСЛЕРУБОЧНЫХ) ЛЕСНЫХ БИОЦЕНОЗОВ ЮЖНО-УРАЛЬСКОГО ЗАПОВЕДНИКА**

Ю.П. Горичев

Южно-Уральский государственный природный заповедник, [revet@pochta.ru](mailto:revet@pochta.ru)

На территории Южно-Уральского государственного природного заповедника проводятся исследования коренных и производных лесных биоценозов. Одна из целей исследований – изучение восстановительных процессов в послерубочных насаждениях 60–80 летнего возраста, возникших в результате сплошных рубок. Ряд пробных площадей (ПП) заложены в насаждениях, соседствующих друг с другом, находящихся в пределах одного экотопа или сукцессионно относящиеся к одному типу леса в понимании Б.П. Колесникова. Геоботанические описания этих ПП представляют определенный интерес. В условиях однородности экотопа состав видов будет полностью определяться биотопическим отбором. Сравнительный анализ состава травянистого яруса этих насаждений может характеризовать направленность биотопического отбора видов. Данные такого сравнительного анализа и послужили материалом для написания этой статьи.

*Объекты и методы.* На пробных площадях размером 50х50 м (0,25 га) проведены исследования структуры древостоя и естественного возобновления стандартными методами лесной таксации [Сукачев, Зонн, 1961], выполнены геоботанические описания. Типы производных насаждений выделены в соответствии с классификацией А.А. Ниценко [Ниценко, 1972]. Эколого-ценотические группы видов (ЭЦГ) приняты по О.В. Смирновой и др. [Смирнова и др., 2007].

Для анализа выбраны 2 группы насаждений, находящихся в западной части заповедника (район широколиственно-темнохвойных лесов). Первая группа расположена в верхней части западного склона хр. Белягуш на высоте 650 м над ур. м. Она включает коренное насаждение пихто-ельник с липой волосистоосоковый (ПП-31) и 2 производных насаждения – осинник волосистоосоково-вейниковый (ПП-29) и березняк кислично-волосистоосоковый (ПП-30). Обе ассоциации относятся к группе ассоциаций мезофильные насаждения средних почв [Ниценко, 1972]. Основные таксационные характеристики древостоев приведены в табл. 1.

Вторая группа, состоящая из 2 насаждений – осинника крапивно-снытевого (ПП-22) и березняка снытево-волосистоосокового (ПП-23) (обе ассоциации относятся к группе ассоциаций мезофильные насаждения богатых почв [Ниценко, 1972]), расположена в нижней части южного склона хр. Мал. Ямантау на высоте 300 м над ур. м. Коренное насаждение отсутствует.

В данном районе (западная часть заповедника, район широколиственно-темнохвойных лесов) на склоновых местообитаниях с мезофильными условиями ко-



ренными биоценозами являются широколиственно-темнохвойные леса [Горичев и др., 2012]. Эдификаторами сообществ выступают темнохвойные породы – ель сибирская и пихта сибирская, в состав древостоя также входят широколиственные породы – липа сердцевидная, клен остролистный, дуб черешчатый и ильм горный. После проведения сплошных рубок их сменяют производные мелколиственные насаждения с преобладанием в составе древостоя осины или березы (преимущественно береза повислая, с некоторой примесью березы пушистой), а также насаждения смешанного состава. Возобновление березняков и осинников в основном вегетативное, причем осинников – практически полностью. Участие в составе древостоя той или другой породы зависит от многих факторов. Преобладание в составе древостоя осины наблюдается в экотопах с более богатыми почвами, в менее благоприятных условиях возрастает участие березы.

**Таблица 1**

**Основные таксационные характеристики древостоев**

Фитоценоз	№№ ПП	Состав древостоя	Бонитет	Кол-во стволов на 1 га	Сумма площадей сечений, м <sup>2</sup> /га	Запас, м <sup>3</sup> /га
Пихто-ельник	31	6ПЗЕ1Лп+Б, Кл, ед.Ил, Ря	II	1376	34,7	365,3
Осинник	29	5Ос3П2Б+Кл, ед.Ил, Лп, Е	I	832	34,0	414,5
Березняк	30	7Б2П1Ос, ед.Лп, Ил, Кл	I	912	32,2	363,1
Осинник	22	8Ос2Лп, ед.Б, Ил, П, Кл	I	880	38,8	500,9
Березняк	23	7Б1П1Лп1Ос, ед С, Кл, Ил	I	884	24,6	341,5

*Результаты и обсуждение.* В пределах ПП, входящих в первую группу насаждений в составе травянистого яруса выявлено всего 60 видов. Число видов во всех 3 насаждениях практически равное – 43–44 вида, однако эколого-ценотические спектры коренного и производных насаждений существенно различаются (табл.2).

**Таблица 2**

**Проективное покрытие и состав травянистого яруса по ЭЦГ (число видов)**

ОПП ЭЦГ	1 группа				2 группа		
	ПЕ (31)	Ос (29)	Б (30)	Всего	Ос (22)	Б (23)	Всего
ОПП тр. яруса, %		60	70		80	90	
ОПП мох. яруса, %		до 3	до 1		до 5	до 3	
Бореальная	12	2	4	14	0	1	1
Неморальная	12	18	16	18	17	15	18
Высокотравная	12	13	14	15	10	10	14
Нитрофильная	2	4	3	4	3	1	3
Лугово-опушечная	4	3	5	7	3	4	5
Боровая	1	1	1	1	2	1	2
Водно-болотная	0	1	1	1	0	0	0
Всего	43	42	44	60	35	32	43

Как видно из табл. 2, в эколого-ценотическом спектре коренного насаждения доминируют 3 ЭЦГ – бореальная, неморальная и высокотравная. Значительно меньшее участие принимают лугово-опушечная и нитрофильная ЭЦГ. В производных насаждениях в сравнении с коренным биоценозом наблюдается значительное, 3–6 кратное сни-

жение количества бореальных видов. Здесь отсутствуют такие виды как *Lycopodium annotinum*, *Cerastium pauciflorum*, *Equisetum sylvaticum*, *Gymnocarpium dryopteris*, *Majanthemum bifolium*, *Pyrola minor*, *Trientalis europaea*. Наряду с этим в 1,3–1,5 раза возрастает число неморальных видов, в частности встречены *Ajuga reptans*, *Epilobium montanum*, *Glechoma hederacea*, *Paris quadrifolia*, *Stachys sylvatica*, *Adoxa moschatellina*, отсутствующие в коренном насаждении. Число видов высокотравья (13–14 видов) несколько больше, чем в коренном насаждении, встречены, отсутствующие в коренном насаждении *Cirsium heterophyllum*, *Delphinium elatum*. В производных насаждениях больше нитрофильных видов, среди них *Filipendula ulmaria* и *Geum rivale*. Число лугово-опушечных (3–5 видов) сохраняется практически на том же уровне, что и в коренном насаждении, но ЭЦГ представлена другими видами в частности *Anthriscus sylvestris*, *Campanula trachelium*, *Prunella vulgaris*. В мелколиственных насаждениях встречен *Bistorta major* – представитель водно-болотной ЭЦГ. Боровая ЭЦГ во всех насаждениях представлена *Calamagrostis arundinacea*, выступающим в роли доминанта.

Общими для всех насаждений являются 25 видов, в т.ч. 1 бореальный вид (*Oxalis acetosella*), 11 – неморальных, 10 высокотравных, 1 боровой (*Calamagrostis arundinacea*), 1 нитрофильный, 1 лугово-опушечный. Общими для коренного насаждения и осинника являются 28 видов, в т.ч. 1 бореальный, 12 неморальных, 11 высокотравных, 1 боровой, 2 нитрофильных, 1 лугово-опушечный. Общими для коренного насаждения и березняка является 31 вид, в т.ч. 3 бореальных вида, 11 неморальных, 1 боровой, 12 высокотравных, 2 нитрофильных, 2 лугово-опушечных.

Флористический состав травянистого яруса березняка и осинника также различаются. Общими являются 35 видов, в т.ч. 1 бореальный, 15 неморальных, 12 высокотравных, 1 боровой, 3 нитрофильных, 3 лугово-опушечных. Только в березняке встречены *Rubus saxatilis*, *Phegopteris connectilis*, *Solidago virgaurea*, *Atragene sibirica*, *Veratrum lobelianum*, *Fragaria vesca*, *Prunella vulgaris*, только в осиннике отмечены *Lamium album*, *Adoxa moschatellina*, *Glechoma hederacea*, *Polygonatum multiflorum*, *Delphinium elatum*, *Filipendula ulmaria*.

В составе травянистого яруса осинника и березняка, входящих во вторую группу насаждений выявлено соответственно 35 и 32 вида, всего 43 вида. Общими для обоих насаждений являются 24 вида, в т.ч. 14 неморальных, 6 высокотравных, 1 боровой, 1 нитрофильный, 2 лугово-опушечных. Только в березняке встречены: *Rubus saxatilis*, *Melica nutans*, *Angelica sylvestris*, *Cacalia hastata*, *Dryopteris filix-mas*, *Pleurospermum uralense*, *Galium boreale*, *Bistorta major*; в осиннике встречены: *Pteridium aquilinum*, *Campanula latifolia*, *Geum urbanum*, *Stachys sylvatica*, *Brachypodium pinnatum*, *Cirsium oleraceum*, *Urtica dioica*, *Veratrum lobelianum*, *Geum rivale*, *Campanula trachelium*.

Эколого-биологические свойства доминантов-эдификаторов производных насаждений – березы и осины, во многом сходны, однако имеются и различия. По разному воздействуя на экотоп, трансформируя среду, они формируют биотопы, характеризующиеся определенными особенностями. Отмечается [Ниценко, 1972], что средобразующее влияние осины больше, чем березы. Опад осины в отличие березы имеет более высокую зольность, чем березы, содержит больше кальция (в 2–3 раза больше, чем в березняках), больше кремния, имеет нейтральную реакцию. Биотопы через биотопический отбор влияют на формирование травянистого яруса, определяя тем самым его состав. Под полог березняка проникает больше света, что позволяет произрастать здесь более светолюбивым видам – видам светлых лесов и полукрытых пространств.

#### Литература

Горичев Ю.П., Давыдычев А.Н., Алибаев Ф.Х., Кулагин А.Ю. Широколиственно-темнохвойные леса Южного Урала: пространственная дифференциация,

фитоценотические особенности и естественное возобновление. – Уфа: Гилем, 2012. – 176 с.

Ниценко А.А. Типология мелколиственных лесов европейской части СССР. – Л., 1972. – 138 с.

Смирнова О.В., Бобровский М.В., Ханина Л.Г., Смирнов В.Э. Биоразнообразие и сукцессионный статус темнохвойных лесов Шежимопечорского и Большепорожного ботанико-географических районов Печоро-Илычского заповедника // Труды Печоро-Илычского заповедника. – Сыктывкар, 2007. – Вып.15. – С.28–47.

Сукачев В.Н., Зонн С.В. Методические указания к изучению типов леса. – М.: Изд-во АН СССР, 1961. – 144 с.

## **АЛЬГОЦЕНОЗЫ ОБРАСТАНИЯ ИСКУССТВЕННЫХ РИФОВ В УСЛОВИЯХ ШТОРМОВОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ (КРЫМ, ЧЕРНОЕ МОРЕ)**

И.К. Евстигнеева<sup>1</sup>, И.Н. Танковская<sup>1</sup>, В.П. Евстигнеев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ИнБЮМ НАН Украины, Севастополь, Logrianin@nm.ru

<sup>2</sup> МГИ НАН Украины, Севастополь, vald\_e@rambler.ru

Сообщество обрастания, формирующееся на твердых поверхностях искусственных рифов, играет ключевую роль в процессах трансформации вещества и энергии водных экосистем. Известно, что около 74 % первичной продукции и 90 % деструкции органического вещества в прибрежной зоне Черного моря приходится на обрастание [Александров, 1999]. Помимо такой биопозитивной роли искусственные рифы выполняют берегоукрепительную функцию, подвергая тем самым сообщество обрастания влиянию штормов. Согласно [Хромов, 1963] шторм определяется как длительный, очень сильный ветер, сопровождающийся разрушениями на суше и сильным волнением на море. В связи с этим, у макрофитов, как важного компонента обрастания, возникает риск быть смещенными с субстрата и поврежденными случайными потоками воды, индуцированными штормом, или обрушающимися волнами. Динамическое воздействие движущейся воды усугубляется еще и регулярностью таких событий [Denny, 2002]. Тем не менее, адаптационная стратегия макрофитов обрастания направлена не только на избежание негативных последствий экстремальных условий среды, но и на извлечение из нее максимальной выгоды.

Штормовая деятельность в Азово-Черноморском регионе подвержена климатической изменчивости в масштабах 50–60 лет и является региональным откликом на крупномасштабные процессы в глобальной климатической системе Земли [Воскресенская, 2009]. В настоящее время наблюдается увеличение частоты опасного ветрового волнения [Наумова, 2010].

Вслед за выводом о нестационарности ветро-волнового режима, можно сделать предположение о нестационарности гидродинамического воздействия на прибрежные экосистемы, частью которых является фитоперифитон. Исследование стратегии выживания макрофитов в условиях активного ветрового волнения создает основу для предсказания отклика сообществ обрастания на глобальные климатические изменения.

Целью настоящей работы стало выяснение характера и степени влияния шторма на структурно-функциональные характеристики сообщества обрастания и их пространственную динамику.

Экспериментальные исследования проводили в прибрежье одной из крупных бухт Севастопольского региона – бухты Круглая – до и после шторма в весенний период 2011 г. Отбор проб проводился в отдельные дни: 01.04 и 18.04. В период между указан-

ными датами на близлежащей морской береговой гидрометеорологической станции (МГ Херсонесский маяк) было отмечено 2 штормовых события – 08.04–10.04 и 15.04–17.04. По данным наблюдений в эти дни высота волн достигала значений 2.0–2.5 м и сопровождалась ветром со средними скоростями 8–10 м/с и отдельными порывами до 14–17 м/с.

Пробы перифитона отбирали с боковой стенки волнореза специальным скребком с площадью захвата 0,1 м<sup>2</sup>. Станции сбора проб располагались на разном расстоянии, как от берега (корневая часть (блок 1), центральная (блок 2) и мористая (блок 3)), так и от поверхности воды (два горизонта высотой: верхний – 0,5 и нижний – 1 м). Схема расположения станций представлена на рисунке.

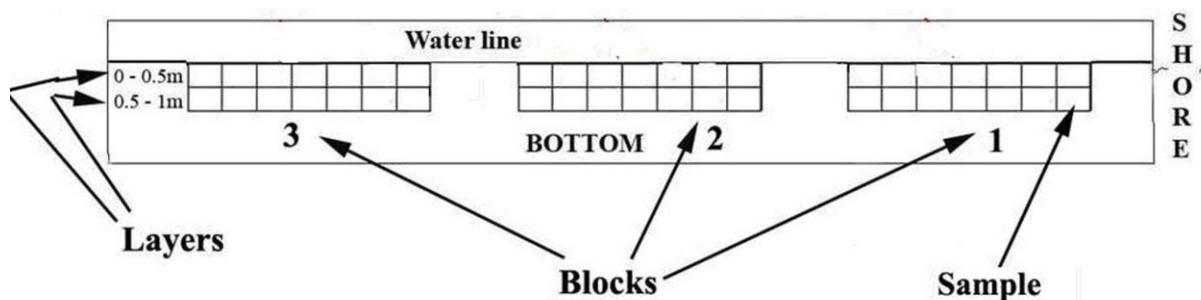


Рис. Схема расположения станций на волнорезе.

В работе использована классификация Chlorophyta (Ch), Phaeophyta (Ph) и Rhodophyta (Rh), принятая отечественными альгологами [Зинова, 1967; Калугина-Гутник, 1985; Разнообразие .., 2000; Мильчакова, 2003]. При анализе структуры ценозов на искусственном субстрате применяли коэффициент общности видов Жаккара  $K_j$  (%), встречаемости  $R$  (%), индекс Шеннона в модификации Вильма [Розенберг, 2005; Wilhm, 1968]. По шкале доминирования, а также по индивидуальной фитомассе видов выявляли группы доминантов и содоминантов. Для описания изменчивости характеристик сообщества определяли лимиты и размах их вариации [Лакин, 1973], а по коэффициенту вариации ( $C$ , %) определяли балл и характер изменчивости биологических признаков [Зайцев, 1990].

Экспериментально установлено, что откликом фитообрастания гидротехнических сооружений на воздействие шторма является не только структурно-функциональная перестройка разного направления, но и сохранение исходного уровня его некоторых характеристик. К стабильным характеристикам фитообрастания относятся: пропорции таксонов; число видов бурых и зеленых водорослей; ключевые таксоны, выделенные на видовом и родовом уровнях; качественный состав доминантов; пространственная приуроченность максимума и минимума фитомассы; число видов и их относительная фитомасса, входящих в состав неизменно лидирующей малозначимой категории. Лабильными характеристиками фитообрастания следует считать общее видовое разнообразие, встречаемость видов, относительная фитомасса и видовой состав содоминантов, степень однородности сообщества по показателям обилия, характер формирования кластеров взаимосвязанных видов, степень пространственной изменчивости некоторых признаков.

Наиболее существенные преобразования видовой структуры, чаще со знаком «минус», происходят в мористой части рифа, а наименьшие – в корневой. В разном удаленных от поверхности воды горизонтах нет больших различий по числу видов на станциях, отмечается лишь возрастание степени его пространственной изменчивости.

Фитомасса, в отличие от числа видов, в горизонтах больше подвержена воздей-

ствию шторма, однако и для нее характерно послештормовое повышение степени пространственной изменчивости. Независимо от шторма *Gelidium crinale* (Turn.) Lamour. занимает позицию основного вида-продуцента, неизменным остается уровень индекса видового разнообразия. Общим для пространственно-временной динамики фитомассы в зависимости от удаленности станций от берега (в блоках) является ее снижение после шторма, кроме Ph, фитомасса которого испытывает повышение в центральной части волнореза. На большей части волнореза соотношение отделов по средней фитомассе не меняется и только на его мористом участке незначительно трансформируется. Степень изменчивости фитомассы в пространстве, как правило, увеличивается до «аномально» высокой, а в случае Ph сохраняется, изначально соответствуя этой же категории. Индекс видового разнообразия в корневой части волнореза остается без изменений, в центральной – увеличивается, в мористой – снижается.

Кластерный анализ данных позволил выделить комплексы видов, взаимосвязанных между собой и с доминантом *G. crinale*. До шторма большинство кластеров различается на уровне одного вида (первый уровень), за ними следуют кластеры второго уровня. После шторма число кластеров первого уровня снижается, второго – увеличивается, появляются кластеры, выделяющиеся на уровне третьего и четвертого по фитомассе видов.

В целом, весенний шторм не приводит к коренным перестройкам фитоценоза обрастания искусственного рифа. Уровень части показателей сообщества после шторма остается прежним и даже проявляет тенденцию к увеличению. Разрушение одних комплексов взаимосвязанных видов замещается появлением других, но при этом организующим элементом остается один и тот же вид (*G. crinale*). Незначительное сокращение видового состава является результирующей процесса исчезновения одних видов и компенсирование за счет появления других. Как правило, сохраняются таксономические пропорции и тенденции пространственных изменений ряда показателей. Наиболее «уязвимыми» оказываются комплексы видов мористой части рифа, среди показателей – фитомасса видов и ценоза в целом. Ряд установленных фактов являются вполне ожидаемыми, и тем самым служат иллюстрацией естественного адаптивного отклика обрастания на предложенные обстоятельства.

#### Литература

Александров Б.А. Экологические проблемы Черного моря: Сб. научн. ст. / ОЦНТЭИ. – Одесса:ОЦНТЭИ, 1999. – С. 192–197.

Воскресенская Е.Н., Наумова В.А., Евстигнеева М.П., Евстигнеев В.П. Низкочастотная изменчивость повторяемости экстремальных штормов в Азово-Черноморском бассейне // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. – 2009. – Вып. 19. – С. 386–394.

Зайцев Г.Н. Математика в экспериментальной ботанике. – М.: Наука, 1990. – 296 с.

Зинова А.Д. Определитель зеленых, бурых и красных водорослей южных морей СССР. – М.; Л.: Изд-во «Наука», 1967. – 397 с.

Калугина-Гутник А.А. Фитобентос Черного моря. – Киев: Наук. думка, 1975.– 248 с.

Разнообразие водорослей Украины / Под ред. С.П. Вассера, П.М. Царенко // Альгология, 2000. – 10, № 4. – 309 с.

Розенберг Г.С. Количественные методы экологии и гидробиологии / Сб. научн. трудов, посвященный памяти А.И. Баканова). – Тольятти: СамНЦРАН, 2005. – 220 с.

Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

Мильчакова Н.А. Макрофитобентос // Современное состояние биоразнообразия прибрежных вод Крыма (черноморский сектор) / Под ред. В.Н. Еремеева, А.В. Гаев-

ской; НАН Украины, Институт биологии южных морей. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2003. – С. 152–191.

Наумова В.А., Евстигнеева М.П., Евстигнеев В.П. Ветро-волновые условия Азово-Черноморского побережья Украины // *Наук. Пр. УкрНДМІ*, 2010. – Вып. 259. – С. 263–283.

Хромов С.П., Мамонтова Л.И. Метеорологический словарь. – Л.: Гидрометиздат, 1963. – 599 с.

Denny M., Gaylord B. The mechanics of wave-swept algae // *J. Expert. Biol.*, 2002. – 205. – P. 1355–1362.

Wilhm I. Use of biomass units in shannons formula. *Ecology*, 1968. – 49, N 1. – P. 153–156.

## ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА И СТРУКТУРЫ ГРУППИРОВОК ВОДОРΟΣЛЕЙ В АССОЦИАЦИЯХ С МОХООБРАЗНЫМИ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ ОБИТАНИЯ

И.Н. Егорова, М.С. Коновалов, Н.В. Дударева, Е.С. Преловская, С.Г. Казановский

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, egorova@sifibr.irk.ru

Проводятся исследования водорослей в ассоциациях с мохообразными наземных местообитаний на территории Байкальского региона. В том числе изучаются ассоциации, развивающиеся на камнях и стволах деревьев. Эти местообитания характеризуются более резкими колебаниями температуры и влажности по сравнению с почвой, зачастую высокой инсоляцией, ограниченным поступлением элементов минеральных веществ.

Средообразующими организмами в изученных ассоциациях на каменистых субстратах являются 18 видов мохообразных: *Sphenobolus saxicola* (Schrad.) Steph., *Dicranum flagellare* Hedw., *D. spadiceum* J.E. Zetterst., *Hedwigia ciliata* (Hedw.) P. Beauv., *Grimmia longirostris* Hook., *Grimmia* sp., *Hylocomium splendens* (Hedw.) Bruch et al., *Hypnum cupressiforme* Hedw., *Oncophorus virens* (Hedw.) Brid., *Philonotis fontana* (Hedw.) Brid., *Platygyrium repens* (Brid.) Bruch et al., *Pohlia longicollis* (Hedw.) Lindb., *Rhytidium rugosum* (Hedw.) Kindb., *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske., *Schistidium submuticum* Broth. ex H.H. Blom., *Scorpidium cossonii* (Schimp.) Hedenäs (*Limprichtia cossonii* (Schimp.) L.E. Anderson), *Tetralophozia setiformis* (Ehrh.) Schljak., *Brachythecium salebrosum* (Web. et Mohr) Bruch et al. На стволах деревьев – 7 видов: *Leptodontium flexifolium* (Dicks.) Hampe (*L. styriacum* (Jur.) Limpr.), *Pylaisia polyantha* (Hedw.) Bruch et al., *P. selwynii* (Kindb.) Crum et al., *Platygyrium repens*, *Didymodon rigidulus* Hedw., *Abietinella abietina* (Hedw.) M. Fleisch., *Hypnum cupressiforme*. Преимущественно это представители класса листостебельных мхов, *BRYOPSIDA*. В качестве основных объектов исследований были выбраны ассоциации, в которых средообразующими являются распространенные на территории виды мхов: *Rhytidium rugosum*, произрастающий на почве и каменистых субстратах, *Hedwigia ciliata* – на каменистых субстратах и почве, *Pylaisia polyantha* и *P. selwynii* – на стволах древесных пород и камнях.

В результате прямых микроскопических наблюдений и применения методов культур выявлено 67 таксонов водорослей родового ранга, включающих 112 видовых и 12 определенных только до рода. Не удалось идентифицировать до рода три представителя. В комплекс водорослей в ассоциациях с мохообразными входят виды из шести отделов: *CYANOPROKARYOTA* – 43 представителя, или 33,8 % от их общего числа, *BACILLARIOPHYTA* – 3 вида, 2,4 %, *XANTHOPHYTA* – 5, 3,9 %, *EUSTIGMATOPHYTA* –

2, 1,6 %, *CHLOROPHYTA* – 63, 49,6 % и *STREPTOPHYTA* – 11 видов, 8,7 %. Ведущая роль по разнообразию видов принадлежит двум отделам: *CYANOPROKARYOTA* и *CHLOROPHYTA*. По численности в естественных условиях доминируют представители *CYANOPROKARYOTA*, *CHLOROPHYTA* и *STREPTOPHYTA*. Аналогичная ситуация наблюдается и в группировках водорослей в ассоциациях с мохообразными напочвенного покрова. Во всех изученных образцах со стволов деревьев и камней обнаруживаются водоросли из отдела *CHLOROPHYTA*; *CYANOPROKARYOTA* были отмечены более чем в 90% случаев. Частота встречаемости водорослей *XANTHOPHYTA* и *BACILLARIOPHYTA* невысока.

Уровень видовой насыщенности родов в среднем составляет 1,9. По числу видов лидируют следующие роды: среди *CYANOPROKARYOTA* – *Jaaginema*, *Tolypothrix*, *Stigonema* (по 3 вида), *Phormidium* (5), *Leptolyngbya*, *Nostoc* (по 7); из *CHLOROPHYTA* – *Myrmecia*, *Tetracystis* (по 3), *Stichococcus* (4), *Chlorococcum*, *Scenedesmus* (по 5 видов), *Chlamydomonas* (6); из *STREPTOPHYTA* – *Klebsormidium* (4 вида). В числе ведущих представлены типичные в наземных местообитаниях роды водорослей. По частоте встречаемости выделяются эти же роды за исключением *Chlorococcum* и *Tetracystis*. Кроме того, обычны представители *EUSTIGMATOPHYTA* из рода *Vischeria*. Из отдела *CHLOROPHYTA* довольно часто встречаются виды родов *Myrmecia*, *Pseudococcomyxa*, *Bracteacoccus*, а из *STREPTOPHYTA* – *Interfilum*.

Анализ состава и структуры группировок водорослей в ассоциациях с *Rhytidium*, *Hedwigia* и *Pylaisia* показал, что в целом им присущи те же черты, которые выявлены для всего комплекса видов: видовое разнообразие *CYANOPROKARYOTA* и *CHLOROPHYTA*, наличие видов из *BACILLARIOPHYTA*, *XANTHOPHYTA*, *EUSTIGMATOPHYTA* и *STREPTOPHYTA*.

Рассматриваемые средообразующие растения обладают определенной спецификой морфологических и физико-химических свойств. Установлено, что актуальная кислотность водной суспензии *Rhytidium* варьирует в диапазоне средне- и слабокислых значений от 4,85 до 5,97. Этот диапазон зарегистрирован и для образцов с почвы, и для образцов с камней. Актуальная кислотность изученных проб *Hedwigia* слабокислая – 5,06–6,16, *Pylaisia* имеет диапазон от слабокислых до среднещелочных значений от 5,64 до 7,82. По-видимому, определенную роль играет субстрат, на котором произрастают мхи. Так, наиболее высокие значения кислотности водной суспензии *Pylaisia* характерны для образцов с каменистого субстрата, представленного гранитоидами с низким содержанием кальция.

В исследованных образцах наиболее часто встречаются и вносят значительный вклад в продуктивность водорослевых группировок виды родов *CYANOPROKARYOTA*: *Nostoc* и *Stigonema* – в ассоциациях с *Rhytidium rugosum* и *Hedwigia ciliata*, *Nostoc* и *Tolypothrix* – в ассоциациях с *Pylaisia*. Ранее нами было показано, что в ассоциациях с разными видами мхов, развивающихся на субстрате с выраженным органоминеральным слоем также обильно могут быть развиты виды родов *Tolypothrix*, *Scytonema*, *Calothrix* (Егорова и др., 2011). В условиях повышенного увлажнения Т.А. Сафоновой (2002) на мохообразных с силикатных камней были отмечены *Hydrocoleus* и *Tolypothrix*. Полученные результаты в определенной степени согласуются с данными для одного из доминантов мохового покрова в бореальных лесах Фенноскандии – *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. Здесь, в основном, регистрировали три рода цианопрокариот: *Nostoc*, *Stigonema* и *Calothrix* (Gentili et al., 2005). Как отмечают исследователи, эти цианопрокариоты обладают несколькими уникальными свойствами, включая бифазный температурный оптимум продуктивности при 13°C и 22°C, что делает их идеально подходящими для азотфиксации в бореальных экосистемах.

*Исследования выполнены в рамках проектов РФФИ № 09-04-00979-а, №11-04-*

#### Литература

Егорова И.Н., Дударева Н.В., Коновалов М.С., Казановский С.Г. Водоросли в ассоциациях с мохообразными каменистых субстратов // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. Барнаул, 2011. – С. 40–43.

Сафонова Т.А. Синезеленые водоросли (CYANOPROCARYOTA) на каменистых субстратах Прибайкалья // Turczaninowia, 2002. – Т.5. – Вып. 1. – С. 68–75.

Gentili F., Nilsson M-C., Zackrisson O., De Luca T. H. and Sellstedt A. Physiological and molecular diversity of feather moss associative N<sub>2</sub>-fixing cyanobacteria // Journal of Experimental Botany, 2005. – V. 56. – P. 3121–3127.

### **ВЛИЯНИЕ ПОДОГРЕТЫХ СБРОСНЫХ ВОД НА СОСТАВ, СТРУКТУРУ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ВЫСШЕЙ ВОДНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ ВОДОЕМА – ОХЛАДИТЕЛЯ БЕЛОВСКОЙ ГРЭС (ЮГ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ)**

Е.Ю. Зарубина, М.И. Соколова

Институт водных и экологических проблем СО РАН, Барнаул, zeur11@mail.ru

На состав, структуру и функционирование растительности в водоемах влияет целый комплекс абиотических и биотических факторов. Водоемы-охладители ТЭС и АЭС значительно отличаются от естественных водоемов и представляют собой сложную природно-техногенную систему, в которой постоянный сброс теплых вод является основным фактором, воздействующим на развитие макрофитов. Особенно это актуально для водоемов-охладителей Северной Азии, где контраст температур в холодный период года выше, чем в водоемах-охладителях Европы. Сброс подогретых вод в водоемы может оказывать как стимулирующее, так и угнетающее воздействие на рост и развитие растений. По данным В.М. Катанской [1979], слабый подогрев воды (на 0,5–3,0<sup>0</sup> С) оказывает влияние только на участках, расположенных вблизи сброса подогретых вод. Сильный подогрев (более чем на 6<sup>0</sup> С) вызывает существенные сдвиги в гидробиологическом режиме всего водоема или значительной его части.

Беловское водохранилище создано в 1964 г. зарегулированием стока р. Иня у г. Белово Кемеровской области для охлаждения подогретых сбросных вод Беловской ГРЭС. Водоохранилище озерно-речного типа с развитой береговой линией. Длина водоема 10 км, максимальная ширина – 2,3 км, минимальная – 1,0 км, максимальная глубина 12,0 м, средняя – 4,4 м. Площадь зеркала при нормальном подпорном уровне (НПУ) 13,6 км<sup>2</sup>, площадь мелководий до 2,0 м при НПУ – 5,4 км<sup>2</sup>. По площади акватории водоем относится к малым водохранилищам, по средней глубине – к мелководным водоемам [Кириллов и др., 1983].

Гидротермический режим водохранилища наряду с естественными факторами определяется в значительной степени сбросом подогретых вод ГРЭС. Вода поступает на ГРЭС по водозаборному каналу из приплотинного участка и сбрасывается по сбросному каналу длиной около 7 км в среднюю часть водохранилища. В результате образуется циркуляционный поток охлаждающейся воды, охватывающий около 40% акватории. По степени влияния подогрева в водоеме можно выделить три зоны: I зона – постоянного сильного подогрева. Это сбросной канал и часть водохранилища в районе его устья. Максимальная температура воды (в июле) –36<sup>0</sup>С. II зона – умеренного подогрева, включающая часть акватории, где распространяется циркуляционный поток нагретой воды. В течение всей зимы за счет поступления теплых вод из сбросного ка-



нала на этом участке ледяной покров не образуется или существует короткое время. III зона – слабо подогреваемая, расположенная в верхнем плесе и приплотинной части водохранилища. Температурный режим здесь близок к естественному. Наибольшее отличие термического режима различных зон водохранилища наблюдается в холодное время года. В теплое время года разница между температурой воды в подогреваемой и неподогреваемой зонах около 5°C, в холодное время года 8–15 °С.

Растительность Беловского водохранилища ранее была исследована в 1972 г. [Катанская, 1979] и в 1978–1979 гг. [Кириллов и др., 1983; Гладкова, Кириллов, 1984]. Работа выполнена на основе сравнения этих данных и результатов натурных исследований, проведенных в апреле, июле и сентябре 2002 г., июле 2006 г., апреле, августе и октябре 2008 г. стандартными методами [Руководство ..., 1992].

Современная гидрофильная флора Беловского водохранилища включает 50 видов, относящихся к 32 родам, 20 семействам и 3 отделам. По видовому разнообразию преобладают покрытосеменные растения (95,8% всех видов). Отношение числа однодольных и двудольных (3,2:1,0) отражает общую тенденцию к преобладанию однодольных в составе гидрофильных флор Голарктики. Ведущее положение в семейственно-видовом спектре занимают представители семейств Potamogetonaceae, Poaceae и Сурегасеae, составляющие 36% от всех видов флоры, что характерно для водоемов-охладителей умеренного пояса Евразии [Катанская, 1979; Папченков, 2001]. Флора Беловского водоема-охладителя очень близка к флоре естественных водоемов региона [Волобаев, 1991].

Специфику термического режима водохранилища-охладителя отражает наличие в структуре флоры термофильных и эвритермных видов (29,5% всех видов). К термофильному элементу флоры относятся такие виды, как *Potamogeton crispus* L., *Hydrilla verticillata* (L. fil.) Royle, *Vallisneria spiralis* L., *Caulinia minor* (All.) Coss. et Germ., отмеченные в Беловском водохранилище только в зоне влияния теплых вод. Эвритермный элемент флоры представляют виды с широким температурным диапазоном. Это представители семейства рдестовых (Potamogetonaceae), *Ceratophyllum demersum* L., *Spirodella polyrhiza* (L.) Schleid., *Persicaria amphibia* (L.) S.F. Gray, пороговые значения теплоустойчивости которых согласно данным Л.Ф. Лукиной, Н.Н. Смирновой [1988], достигают температур 38–43<sup>0</sup> С.

Валлиснерия спиральная (*Vallisneria spiralis*) относящаяся к группе евросубтропических видов, с конца XX века широко распространилась во многих водоемах-охладителях тепловых и атомных электростанций умеренной зоны Евразии и, по мнению В.М. Катанской [1979], относится к заносным синантропным видам. В Беловском водохранилище сообщества валлиснерии встречаются на участках постоянного сильного (I зона) и умеренного подогрева (II зона). Морфометрические показатели валлиснерии на этих участках значительно различались. Длина листа в I зоне не превышала 20–25 см при максимальной ширине 0,4 см; во II зоне – 65–70 см и 1,5 см соответственно. Так как сбросной канал не замерзает в зимний период, вегетация валлиснерии здесь круглогодичная и два раза в год – в апреле и октябре происходит цветение [Зарубина, Соколова, 2010].

Растительность водохранилища достаточно разнообразна, отмечено 25 формаций. Для I зоны постоянного сильного подогрева характерно распространение в воде формации *Vallisnerieta spiralis*, по урезу воды – *Typheta angustifoliae* и *Phragmiteta australis*.

В истоке сбросного канала валлиснерия образует только моновидовые сообщества и, вероятно, не имеет конкурентов среди других макрофитов. На участках с более низкими температурами воды появляются ассоциации с термофильными и эвритермными видами *Potamogeto-Vallisnerietum spiralis*, *Ceratophyllo-Vallisnerietum spiralis*, *Lemno-Vallisnerietum spiralis*, *Cladophoreto-Vallisnerietum spiralis*. В теплый период года в зоне

сильного подогрева вследствие высокой термической нагрузки эти виды не могут конкурировать с валлиснерией, но на участках умеренного подогрева (II зона) валлиснерия выступает уже как сопутствующий вид, за исключением короткого периода ранней весны. В ранневесенний период (апрель) в водохранилище встречается ассоциация валлиснерии с водяным мхом. Это сообщество развивается на участках, свободных ото льда, когда другие виды еще не успели появиться после зимы.

В слабо подогреваемой зоне доминируют формации: *Potameta lucentis*, *Potameta perfoliati*, *Myriophylleta sibirici*, *Lemno minori-Spirodeleta*, *Typheta angustifoliae* и *Phragmiteta australis*, *Equiseteta fluviatilis* и *Typheta latifoliae*, характерные для естественных водоемов этого региона.

Постоянный сброс теплых вод Беловской ГРЭС оказывает угнетающее влияние на функционирование растительности в I зоне – постоянного сильного подогрева, и стимулирующее в зоне II – умеренного подогрева. Показателем этого воздействия может служить величина биомассы. Биомасса валлиснерии в 2008 г. в истоке сбросного канала, где отмечалась максимальная температура воды во все сезоны наблюдения (весна, лето, осень) была значительно ниже, чем на менее подогреваемых участках. Так, в апреле биомасса валлиснерии в устье составляла 120 г/м<sup>2</sup> в воздушно-сухом весе, в истоке – 248 г/м<sup>2</sup>, в водохранилище – 376 г/м<sup>2</sup>. В августе в истоке сообщества валлиснерии образовали биомассу 264 г/м<sup>2</sup>, в устье – 560 г/м<sup>2</sup>; в октябре – 120 и 1072 г/м<sup>2</sup> соответственно. Биомасса рогоза узколистного в августе 2008 г. в зоне постоянного сильного подогрева составляла 996 г/м<sup>2</sup>, в зоне умеренного подогрева – 1368 г/м<sup>2</sup>.

Снижению негативного воздействия постоянного сброса теплых вод на состояние растительности в водохранилище способствует большая интенсивность внутреннего водообмена (около 25 раз в год), характерная для водоемов-охладителей с оборотной системой водоснабжения. В июле 2006 г. на Беловской ГРЭС вместо 6 агрегатов работало только 2, что привело к значительному снижению водообмена. Следствием этого явилось массовое развитие на акватории сине-зеленых водорослей, а площади зарастания макрофитами заливов и литоральных участков увеличились в несколько раз. Причем, погруженные виды, такие как роголистник, ряска тройчатая, различные виды рдестов полностью заняли всю толщу воды с проективным покрытием до 100%. После того, как станция заработала в прежнем режиме, произошло восстановление экосистемы, и в 2008 г. степень развития растительности практически не отличалась от 2002 г.

#### Литература

Волобаев П.А. Флора и экологические закономерности распространения водных макрофитов Кузнецкого Алатау: Автореф. канд.дис....к.б.н. – Новосибирск, 1991. – 16 с.

Гладкова З.И., Кириллов В.В. К прогнозу развития высшей водной растительности водохранилищ-охладителей ГРЭС КАТЭК (Берешского и Верхне-Урюпского) // Вопросы охраны природной среды. Тр. ЗапСибРНИИ. – М.: Гидрометеиздат, 1984.– Вып. 62. – С. 3–10.

Зарубина Е.Ю., Соколова М.И. Многолетние изменения популяции *Vallisneria spiralis* L. в водоеме-охладителе Беловской ГРЭС (юг Западной Сибири) // Российский журнал биологических инвазий, 2010. – №4. – С. 10–18.

Катанская В.М. Растительность водохранилищ-охладителей тепловых электростанций Советского Союза. – Л., 1979. – 278 с.

Кириллов В.В., Гладкова З.И., Козлова С.В., Матвеев Л.Э. Высшая водная растительность водохранилища-охладителя Беловской ГРЭС (1978–1979 гг.) // Комплексные исследования водных ресурсов Сибири. Тр. ЗапСибРНИИ. – М.: Гидрометеиздат, 1983.– Вып. 56. – С. 98–105.

Лукина Л.Ф., Смирнова Н.Н. Физиология высших водных растений. – Киев: Наукова думка, 1988. – 186 с.

Папченков В.Г. Растительный покров водоемов и водотоков Среднего Поволжья. – Ярославль: ЦМП МУБиНТ, 2001. – 200 с.

Руководство по гидробиологическому мониторингу пресноводных экосистем. – Санкт-Петербург: Гидрометеиздат, 1992. – 318 С.

## **СТРУКТУРА И ДИНАМИКА ЛЕСНЫХ ФИТОЦЕНОЗОВ В ПРЕДБАЙКАЛЬЕ НА УЧАСТКАХ, ЗАГРЯЗНЯЕМЫХ ВЫБРОСАМИ АЛЮМИНИЕВЫХ ЗАВОДОВ**

О.В. Калугина

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, phytotox@sifibr.irk.ru

Проблема негативного воздействия техногенных выбросов на окружающую среду Предбайкалья уже на протяжении четырех десятилетий является одной из наиболее актуальных. Существенный вклад в загрязнение атмосферного воздуха вносит цветная металлургия, в частности, алюминиевая промышленность. В настоящее время в Предбайкалье действуют два крупнейших в России алюминиевых завода – Братский (БрАЗ) и Иркутский (ИркАЗ), в г. Тайшете продолжается строительство нового алюминиевого завода и уже предпринимаются попытки запустить опытный цех по производству первичного алюминия. Привлекательность размещения в сибирских регионах алюминиевых предприятий, несмотря на удаленность от источников сырья и рынков сбыта, обусловливается низкой себестоимостью электроэнергии.

Ежегодно с выбросами БрАЗа в атмосферу поступает 86 тыс. тонн загрязняющих веществ, что составляет 79% от суммарных выбросов стационарных источников Братского промцентра, объем эмиссий ИркАЗа равен 24,5 тыс. тонн, что составляет 70% от общего количества токсикантов Шелеховского промцентра [Государственный..., 2012]. Наиболее токсичными компонентами выбросов алюминиевых заводов являются фторсодержащие соединения, в частности, фтористый водород и твердые фториды, а также диоксид серы, оксид углерода, неорганическая пыль, обогащенная алюминием и кремнием, смолистые вещества, содержащие ПАУ.

Цель данной работы – проанализировать структуру и динамику лесных фитоценозов на участках, загрязняемых выбросами Братского и Иркутского алюминиевых заводов.

Во время полевых исследований 2012 г. на участках, загрязняемых выбросами БрАЗа и ИркАЗа, было заложено 36 пробных площадей. Их закладка велась с учетом направления преобладающего атмосферного переноса и особенностей рельефа местности. На каждой пробной площади определяли основные лесотаксационные характеристики древостоев, проводили геоботаническое описание, оценивали визуальные параметры крон, морфоструктурные показатели стволов и побегов деревьев. Изучаемые параметры древостоев на загрязняемых территориях сравнивались с соответствующими показателями на фоновых участках, удаленных от техногенных источников на 80–150 км.

Обследованные территории входят в зону подтаежных сосновых и лиственнично-сосновых лесов. Почвенный покров представлен маломощными серыми лесными, дерново-карбонатными и дерново-подзолистыми типами почв. В составе древесного яруса в зоне воздействия выбросов БрАЗа преобладают *Larix sibirica* Ledeb. и *Pinus sylvestris* L., часто встречается *Betula pendula* Roth. На участках, расположенных на удалении 500

м от завода, доминируют лиственные породы, хвойные виды деревьев встречаются единично в сильно угнетенном состоянии. Древостои чаще всего средневозрастные (50–80 лет), одноярусные, не густые (полнота составляет 0,3), сомкнутость крон составляет 0,2–0,3. В подросте преобладают мелколиственные породы высотой от 0,5 до 3,5 м, подрост и возобновление хвойных видов слабое или отсутствует. В составе древесного яруса в зоне воздействия выбросов ИркаЗа преобладает *Pinus sylvestris*, в смеси часто встречается *Betula pendula* и *Populus tremula*. Древостои, как правило, средневозрастные (60–80 лет), одноярусные, не густые (полнота составляет 0,4), сомкнутость крон варьирует от 0,3 до 0,5. В подросте преобладают мелколиственные породы – *Betula pendula* и *Betula tremula* высотой от 1 до 3,5 м, встречаются единичные экземпляры *Pinus sylvestris* высотой от 1,5 до 3 м. Возобновление хвойных пород неудовлетворительное.

В ходе исследований выявлено, что в результате негативного воздействия выбросов алюминиевых предприятий существенно изменились показатели состояния ассимилирующей фитомассы деревьев. Так, уровень дефолиации крон деревьев сосны достигает 55% в окрестностях Иркутского и 70% – в окрестностях Братского алюминиевого завода, на фоновых территориях Байкальского региона он составляет 20–30%. Продолжительность жизни хвои сокращается до 2–3 лет, в то время как на фоновых территориях она составляет 5–6 лет. Вблизи ИркаЗа на хвое сосны отмечаются краевые некрозы, вызванные залповыми выбросами завода. Вблизи БраЗа процент некротизированной хвои в кронах зачастую превышает 50%, зарегистрированы здесь суховершинные деревья и сосны с флагообразной формой кроны.

Анализ морфометрических показателей стволов и побегов сосны свидетельствует, что в наибольшей степени они отличаются от фоновых параметров на территории воздействия выбросов Братского алюминиевого завода (табл. 1). Как видно из таблицы, самыми информативными из перечисленных параметров являются объем ствола, масса хвои на побегах, длина и охвоенность побегов. Их значения при воздействии эмиссий БраЗа уменьшаются по сравнению с фоновыми от 2,5 до 6,0 раз, при воздействии выбросов ИркаЗа – от 1,6 до 2,5 раз.

**Таблица 1**

**Морфоструктурные показатели стволов, побегов и хвои сосны при воздействии выбросов алюминиевых заводов**

Показатели	Алюминиевые заводы		Фоновые территории
	Иркутский	Братский	
Высота ствола (h), м	15,83±2,30	12,34±2,41	18,70±1,41
Диаметр ствола (d), м	0,24±0,04	0,16±0,02	0,35±0,01
Объем ствола (v)*, м <sup>3</sup>	0,34±0,06	0,14±0,02	0,83±0,02
Длина побегов 2-го года жизни, см	8,92±2,08	5,37±1,21	16,35±3,2
Охвоенность побегов 2-го года жизни, шт.	142,16±26,88	93,40±28,60	227,44±34,21
Масса хвои на побегах, г	1,70±0,13	0,79±0,15	3,01±0,30
Масса одной хвоинки (m), мг	11,96±0,09	8,46±0,18	13,37±0,24
Длина хвои (l), мм	53,70±4,34	39,42±3,95	48,63±4,33
Коэффициент роста хвои (m/l)	0,22±0,02	0,21±0,08	0,27±0,11

\* Объем ствола рассчитывали по формуле  $v=0,1 d^2 \times (3,14 h + 9,43)$  [Костюк, Мельник, Шмакова, 2009].

Подлесок на участках вблизи алюминиевых заводов слабо выражен, не образует сомкнутого яруса, состоит из отдельных растений *Rosa acicularis* Lindl. и *Spirea media* Franz Schmidt. На большем удалении от заводов в составе подлеска встречается также *Sorbus sibirica* Hedl., *Salix carpea* L., *Rhododendron dauricum* L.

Травянистая растительность в условиях техногенной нагрузки претерпевает существенные изменения. Установлено, что по мере приближения к алюминиевым заводам снижается проективное покрытие и высота травяного яруса, уменьшается общая численность видов, изменяется их видовой состав (табл. 2). Кроме этого вблизи алюминиевых заводов отмечается значительное нарушение почвенного покрова,

Таблица 2

**Изменение некоторых параметров структуры травяного яруса  
вблизи алюминиевых заводов**

Параметры	Алюминиевые заводы		Фоновые территории
	Иркутский	Братский	
Нарушенность почвенного покрова, %	55	70	5
Общее проективное покрытие, %	55	40	85
Общая численность видов	24	18	34
Соотношение лесных/рудеральных видов, %	44/56	42/58	95/5
Ярусность травяного покрова	II	II	III
Средняя высота травостоя, см	30	20	50
Мощность подстилки, см	2-3	2-4	5-8

обусловленное увеличением доли антропогенных включений и изменением расположения генетических горизонтов в системе почвенного профиля. На лесных территориях в результате интенсивного техногенного загрязнения происходит нарушение органической толщи почв, снижение мощности подстилки, значительное уплотнение верхних горизонтов. Процессы антропогенного нарушения почв приводят к значительной трансформации естественных фитоценозов, т.е. замене лесных видов растений на более устойчивые к внешнему воздействию – луговые и сорные. В зависимости от степени и характера нагрузок возрастает ценотическая значимость рудеральных видов. Преобладающими видами травянистой растительности здесь являются: *Ranunculus sceleratus* L., *Poa pratensis* L., *Trifolium pratense* L., *T. lupinaster* L., *Poligonum aviculare* L., *Anemone sibirica* L., *Achillea asiatica* Serg., *Carex* sp., *Plantago depressa* Willd., *Linaria vulgaris* Mill., *Carum carvi* L., *Equisetum arvense* L. На удалении от заводов количество сорных видов уменьшается, высокую степень встречаемости здесь имеют: *Carex macroura* Meinsh., *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn ex Decken, *Sanguisorba officinalis* L., *Vicia geminiflora* Trautv. и *V. unijuga* A. Br., *Lathyrus humilis* (Ser.) Sprengel, *Rubus saxatilis* L., *Heraclium dissectum* Ledeb. На фоновых территориях видовое разнообразие трав гораздо большее, луговые и сорные виды встречаются в основном по опушкам и вдоль лесных дорог и тропинок. Из лесных видов преобладающими являются *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, *Pyrola rotundifolia* L., *Campanula glomerata* L., *Cypripedium macranthon* Sw., *Antennaria dioica* Gaertn, *Viola uniflora* L. и другие.

Обнаружено также, что под влиянием техногенных выбросов деградирует и лишайниковый покров, на фоновых участках лишайники обильно покрывают стволы разных пород деревьев.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 12-04-31036 мол\_а).

Литература

Государственный доклад о состоянии и об охране окружающей среды Иркутской области за 2011 год. – Иркутск: изд-во ООО «Форвард», 2012. – 400 с.

Костюк В.И., Мельник Н.А., Шмакова Н.Ю. Состояние ассимилирующих органов растений в условиях техногенного загрязнения. – Апатиты: изд-во Кольского научного центра РАН, 2009. – 82 с.

## **МОРФОСТРУКТУРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ УСТОЙЧИВОСТИ НАСАЖДЕНИЙ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО В РАЗЛИЧНЫХ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ**

Н.Ф. Каплина

Институт лесоведения РАН, Московская обл., с. Успенское, kaplina@inbox.ru

Дубравы в настоящее время страдают от деградации и усыхания. Сокращаются их площади, наблюдается многолетняя дефолиация. В последние 10 лет в Европе дубравы центра и юга являются наиболее поврежденными насаждениями [The Condition of Forests in Europe, 2011]. Остается неясным, как современное неудовлетворительное состояние дубрав соотносится с известной долговечностью дуба; есть сомнения в возможности дальнейшего существования дубрав как природной формации.

Методика изучения состояния древостоев, в т.ч. дуба, на наш взгляд, недостаточно разработана. Оценки основаны на изменчивых показателях – дефолиации и усыхания ветвей [Алексеев, 1989; Руководство..., 2007; ICP Forests Manual, 2010]. Для дуба черешчатого, даже 10-летняя стабильность этих показателей не позволяет делать долгосрочные прогнозы.

Существующую систему оценок необходимо дополнить показателями, устойчивыми во времени. В первую очередь, это морфологические показатели роста и развития кроны свойственные дереву, как жизненной форме. С данной целью, необходимо развитие принципов и методов изучения состояния деревьев и древостоев. В представленном докладе подводятся итоги ряда исследований с применением оригинальной классификации роста и развития крон деревьев дуба и полученных на её основе устойчивых оценок состояния древостоев.

Предложенная классификация соответствует представлениям фитоценологии о жизненности растений, а именно, более высокой жизненности крупных хорошо развитых особей и образуемых ими ценопопуляций [Злобин, 1989; Смирнова, Торопова, 2004]. Выделено три типа крон (класса жизненности) по признакам роста и развития, характерным именно для дуба черешчатого (раскидистая, зонтиковидная, узкокронная) [Каплина, Селочник, 2009]. При слабом фоновом воздействии неблагоприятных факторов, кроны дуба обычно – раскидистого типа, в неблагоприятные годы на их скелетных ветвях развиваются водяные побеги. При средней интенсивности неблагоприятных факторов у деревьев усыхают крупные нижние ветви, часто с замещением их водяными побегами, тип кроны становится зонтиковидным. Со временем усыхает вся первичная крона с заменой ее водяными побегами, кроны становятся узкокронной. У деревьев всех типов, растущих при хорошем освещении, может развиваться вторичная крона, как под первичной кроной, так и на месте отмершей первичной кроны.

Типы крон, выделяются по неспецифическим признакам, свойственным растениям на популяционном и внутривидовом уровнях [Злобин, 2012]. Для дуба, деградация которого обусловлена комплексом взаимосвязанных факторов, неспецифические признаки наиболее информативны.

С использованием оригинальной классификации крон дуба, исследовали дубравы как в естественных условиях роста – в лесостепи, где основными неблагоприятными факторами являются засухи и повреждение филлофагами, и полупустыне Калмыкии, где существование дубрав обусловлено доступностью влаги, так и в техногенной среде

– лесах и парках Московского региона, где наибольшее влияние оказывают рекреация, автотранспортные загрязнения и филлофаги. Также описывали кроны дуба по классификации онтогенетических состояний, санитарного состояния, дефолиации. Ажурность крон описана детально, по двум грациям: разорванности крон деревьев и облиственности в пределах ветвей.

Показаны особенности отражения различными классификациями погодичной динамики типичных морфоструктурных изменений крон дуба в неблагоприятные годы. Так, оценка лесопатологического состояния дубрав лесостепи зависит от дефолиации и циклического отмирания и обновления облиственных побегов, в связи с чем не может использоваться для прогнозов на несколько лет. Классификация деревьев по Крафту дает наиболее стабильные оценки, отражая устойчивость внутривидовых конкурентных отношений, что делает её непригодной для прогнозов в неблагоприятные периоды. Оценка развития крон по оригинальной классификации чувствительна к усыханию крупных нижних ветвей и может быть использована в среднесрочном прогнозировании. Также показана высокая информативность фотографий крон дуба для оценки динамики их состояния и морфоструктуры [Каплина, Жиренко, 2012].

Проанализирован 10-летний цикл состояния высокопродуктивного нагорного насаждения дуба среднего генеративного онтогенетического состояния южной лесостепи. Недостаток влаги и повреждение насекомыми-филлофагами в первую очередь вызывают снижение количества и качества листьев дерева, усыхание ветвей 2–3 порядков. Выделены три стадии этого цикла. 1. Депрессия – доля числа деревьев 1–2 категорий состояния остается выше 90%, а раскидистого типа – выше 23%. 2. Благоприятные годы – доля числа раскидистых деревьев увеличилась до 33%. 3. Наихудшие годы – доля числа деревьев 1–2 категорий состояния снизилась до 65%, а раскидистых деревьев – снизилась до 19% [Каплина, Жиренко, 2012].

На основании исследований в Московском регионе, Теллермановском массиве в лесостепи и искусственных дубрав Калмыкии сделан вывод об отрицательном влиянии конкуренции на состояние и динамику выживаемости деревьев дуба черешчатого. Конкуренция является сильным фактором снижения устойчивости, даже в сравнении с повреждением листьев насекомыми, засолением, засухами и т.п. и может оказаться критическим фактором в неблагоприятные годы [Каплина, Селочник, 2013б].

Доля раскидистых деревьев дуба варьирует во всей совокупности объектов исследования от 0 до 100% и отражает как постоянное так и периодическое влияние неблагоприятных факторов. Изученные древостои дуба в неблагоприятных (естественных и техногенных) условиях можно разделить на две группы. 1. С низкой долей деревьев раскидистого типа 1–3 категорий состояния – до 30–50%, что вызвано деградацией крон при длительном влиянии неблагоприятных факторов. 2. С высокой долей деревьев раскидистого типа – от 50%. Эти насаждения представлены во всем диапазоне категорий состояния насаждений. Их плохое состояние наблюдается при интенсивных неблагоприятных факторах, либо потере способности к адаптации [Селочник, Каплина, 2011; Каплина, Селочник, 2013а].

Наиболее информативным для диагностики экологических условий в Московском регионе оказался показатель доли раскидистых деревьев благонадежного состояния (1–2 категорий) от общего числа раскидистых деревьев. Он позволяет анализировать неблагоприятное влияние среды без учета конкуренции. Выявлено, что предложенная классификация крон деревьев дуба по росту и развитию может быть использована для прогноза срока эксплуатации лесопарковых насаждений дуба и рекомендаций по его продлению. Применение для этой цели официально принятой шкалы категорий состояния в городских условиях затруднено как в связи с быстрым восстановлением листвы, изменчивостью категорий по годам, так и с уборкой деревьев 4–6 категорий. Однако

она полезна как дополнение к классификациям по морфоструктурным признакам [Каплина, Селочник, 2013а].

Выводы. 1. Предложенная классификация крон дуба основана на неспецифических признаках роста и развития и поэтому может быть использована в исследованиях воздействия самых различных факторов. Она апробирована для древостоев дуба черешчатого в условиях: различных природных зон и биотопов, конкуренции в древостое, неблагоприятных лет (засухи, филлофаги), рекреации, автодорожных загрязнений. 2. Показатели крон предложено подразделять на группы, различающиеся изменчивостью во времени, что целесообразно для многолетних древесных растений. Так, показатели листьев могут изменяться даже в сезонной динамике, обеспеченность кроны облиственными побегами изменяется циклически по годам, тип роста и развития кроны значительно менее изменчив, социальный статус дерева практически неизменен. 3. Обоснована необходимость и предложено применение этих групп показателей для раздельной оценки текущего состояния и жизнеспособности древостоев дуба. 4. Устойчивость древостоев дуба оценена по виталитетным спектрам, в первую очередь, по доле числа раскидистых деревьев, т.к. этот показатель оказался наиболее информативным. 5. Сделан вывод об отрицательном влиянии конкуренции на состояние и динамику выживаемости деревьев дуба черешчатого, чего следует избегать в экстремальных природных и техногенных условиях.

*Работа поддержана РФФИ (гранты 12-04-01347, 12-04-01077) и Программой фундаментальных исследований ОБН РАН «Биологические ресурсы России: Динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий».*

#### Литература

Алексеев В.А. Диагностика жизненного состояния деревьев и древостоев // Лесоведение, 1989. – № 4. – С. 51–57.

Злобин Ю.А. Принципы и методы изучения ценологических популяций растений. Казань: Изд-во КГУ, 1989. – 147 с.

Злобин Ю.А. Основные тенденции развития эколого-функциональных классификаций растений // Известия Самарского научного центра Российской академии наук, 2012. – Т. 14. – № 1(6). – С. 1470–1472.

Каплина Н.Ф., Жиренко Н.Г. Динамика фитомассы листьев, состояния и развития крон деревьев нагорной дубравы юго-восточной лесостепи в неблагоприятных условиях последнего десятилетия // Вестник Поволжского государственного технологического университета. Серия: Лес. Экология. Природопользование, 2012. – № 2. – С. 3–11.

Каплина Н.Ф., Селочник Н.Н. Морфология крон и состояние дуба черешчатого в средневозрастных насаждениях лесостепи // Лесоведение, 2009. – № 3. – С. 32–42.

Каплина Н.Ф., Селочник Н.Н. Оценка состояния дубрав как объектов природопользования в условиях Московского региона // Международная научно-практическая конференция «Рациональное природопользование: традиции и инновации». МГУ им. М.В. Ломоносова, 23 – 24 ноября 2012 г. – Москва, 2013а (в печати).

Каплина Н.Ф., Селочник Н.Н. Устойчивость древостоев дуба в трех контрастных биотопах юго-восточной лесостепи. 2013б (в данном сборнике).

Руководство по проектированию, организации и ведению лесопатологического мониторинга. Приложение 1 к приказу Рослесхоза от 29.12.2007, № 523.

Селочник Н.Н., Каплина Н.Ф. Оценка состояния дубрав с учетом развития крон деревьев в неблагоприятных условиях: антропогенных (Московский регион) и климатических (лесостепь) // Вестник Московского государственного университета леса. Лесной вестник, 2011. – № 4(80). – С. 103–108.

Смирнова О.В., Торопова Н.А. Общие представления популяционной биологии и



экологии растений // Восточноевропейские леса: история в голоцене и современность. – М., 2004. – Кн. 1. – С. 154–164.

ICP Forests Manual, 2010. www.url: <http://icp-forests.net/page/icp-forests-manual>

The Condition of Forests in Europe. Executive Report, 2011. www.url: <http://www.icp-forests.org/pdf/ER2011.pdf>

## УСТОЙЧИВОСТЬ ДРЕВОСТОЕВ ДУБА В ТРЕХ КОНТРАСТНЫХ БИОТОПАХ ЮГО-ВОСТОЧНОЙ ЛЕСОСТЕПИ

Н.Ф. Каплина, Н.Н. Селочник

Институт лесоведения РАН, Московская обл., с. Успенское, [kaplina@inbox.ru](mailto:kaplina@inbox.ru), [lenelse@yandex.ru](mailto:lenelse@yandex.ru)

С целью разработки методов оценки и прогноза состояния древостоев, необходимо исследовать выживаемость и сопряженные с ней показатели деревьев в течение длительного времени. Однократные обследования древостоев не позволяют делать выводы об их дальнейшей судьбе. Тем более они не позволяют выявлять и изучать особенности факторов устойчивости деревьев и древостоев.

В представленной работе проводится сравнительный анализ динамики выживаемости, состояния и развития крон деревьев дуба черешчатого в трех контрастных биотопах на ППП в дубравах Теллермановского опытного лесничества Института лесоведения РАН (Борисоглебский р-н Воронежской обл., 111°20'53" N, 41°58'35" E).

Объекты и методы. Исследования проведены в трех типах дубрав: солонцовой (V бонитет, VII группа возраста), пойменной ландышево-ежевичной (II б., VII гр. в.) и нагорной снытево-осоковой (I б., V гр. в.). I ярус всех изученных древостоев – практически чистый по составу; далее приводятся показатели только дубового элемента леса. Снытево-осоковая дубрава – искусственного происхождения, здесь проведены трехкратные низовые рубки ухода (последний прием – в 1975 г.). Для всех деревьев на ППП регулярно проводили измерения линейных размеров стволов и крон, визуальные описания по многим показателям, в т.ч. по категориям состояния [Руководство, 2007] и по оригинальной классификации роста и развития крон (1 – раскидистая крона, 2 – зонтиковидная, 3 – узкокронная, из водяных побегов) [Каплина, Селочник, 2009].

Ранее отмечены восстановительные процессы и улучшение лесопатологического состояния в различных типах дубрав Теллермановского леса в 1983–1999 гг. в связи с улучшением влагообеспеченности и слабой дефолиацией [Селочник, 2003]. Для дубравы снытево-осокового типа описана динамика показателей древостоя за 1985–2007 гг., в т.ч. применена оригинальная классификация крон деревьев дуба по росту и развитию. Выявлено, что рубки ухода привели к лучшему развитию крон [Каплина, Селочник, 2009]. Анализ динамики различных показателей, в т.ч. фитомассы листвы в дубраве снытево-осокового типа показал, что после засух 2009–2010 гг. состояние древостоя – наихудшее за четверть века, но не критическое [Каплина, Жиренко, 2012].

Результаты и обсуждение. Сравнимые типы дубрав различаются по полноте в соответствии с их бонитетом – в худших условиях произрастания полнота ниже (табл. 1). Динамика полноты также различна по типам дубрав – если в солонцовой дубраве полнота несколько снизилась, то в пойменной даже увеличилась. В высокопродуктивной снытево-осоковой дубраве полнота практически не изменилась, очевидно, флуктуируя на предельном уровне.

Многолетние тренды выживаемости деревьев дуба сильно различаются по типам дубрав (рис. 1), являясь результатом адаптации дуба черешчатого к условиям местопроизрастания. Из рис. 1 следует, что по показателю выживаемости (80% за 25 лет)

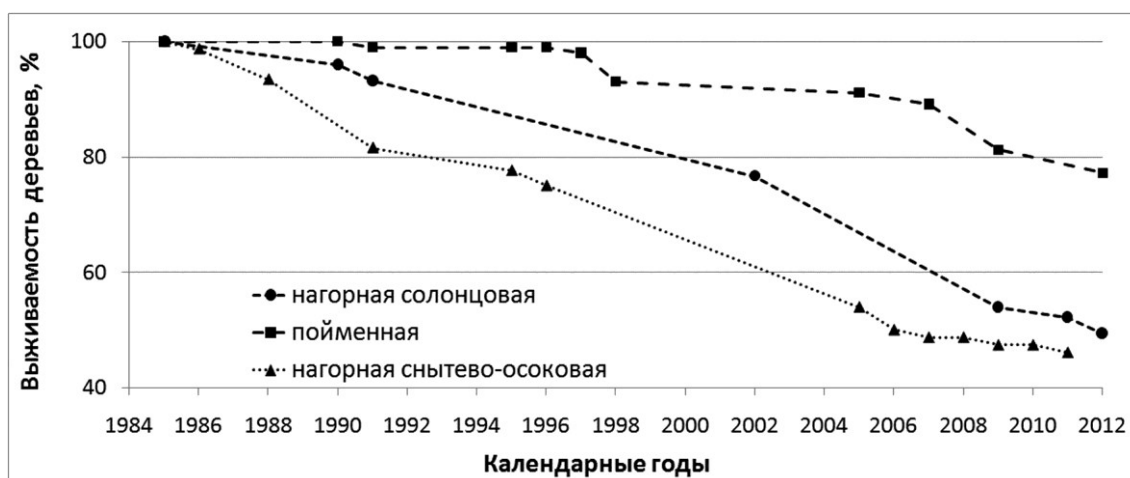
пойменная дубрава наиболее устойчива, несмотря на регулярное повреждение

Таблица 1

**Абсолютная полнота древостоев в различных типах дубрав, м<sup>2</sup> га<sup>-1</sup>**

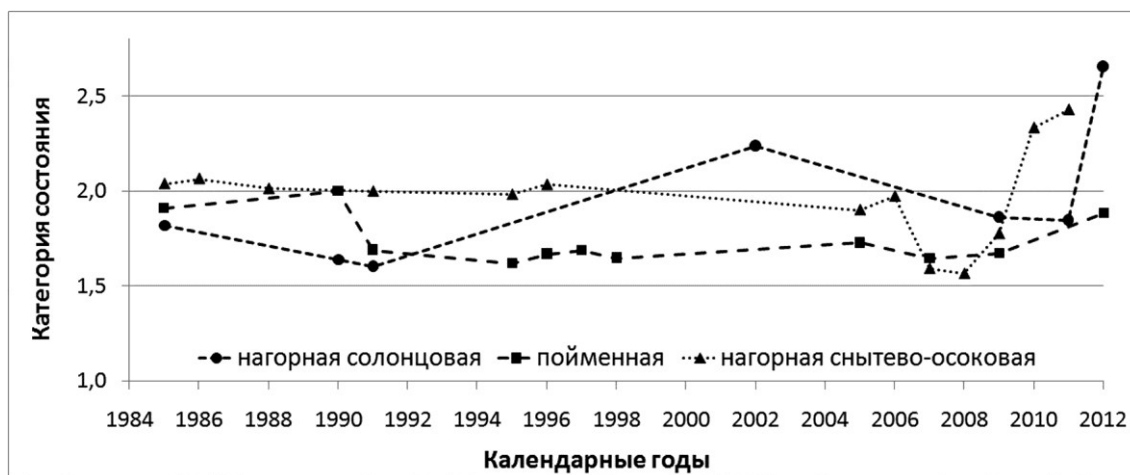
Календарные годы	Солонцовая	Пойменная	Снытево-осоковая
1985	9.0	19.8	27.1
2012	7.7	23.5	27.9

филлофагами, периодические засухи и весенние подтопления. Высокопродуктивная снытево-осоковая дубрава наименее устойчива (выживаемость менее 50% за 25 лет) в связи с высокой конкуренцией, которая объясняется, прежде всего, её онтогенетическим состоянием (периодом быстрого роста) и, в значительной степени, искусственным происхождением (генетической, возрастной и пространственной однородностью).



**Рис. 1. Выживаемость деревьев дуба в различных типах дубрав.**

Средняя категория состояния живых деревьев дуба (рис. 2) сходна во всех типах дубрав. В целом за рассматриваемый период она несколько ниже в солонцовой и выше в пойменной дубраве. То же можно сказать о доле деревьев 1 и 2 категорий состояния от числа живых деревьев – во всех типах дубрав она в основном остается на уровне 90% и более, снижаясь в самые неблагоприятные годы, особенно в нагорных типах дубрав, начиная с засушливого 2010 г. – до 40–60%. Такая стабильность обеспечивается отпадом деревьев наихудшего состояния.



**Рис. 2. Динамика средней категории состояния живых деревьев дуба по типам дубрав.**

Иная динамика наблюдается по доле деревьев лучшей – 1 категории состояния. Это очень изменчивая величина, составляющая в лучшие годы 40–50 %, в худшие – 0–25%. В солонцовой дубраве лучшие годы по этому показателю – начало 1990-х, худшие – начало 2000-х и начиная с 2010 г. В снытево-осоковой дубраве лучшие годы – 2007–2008 гг., худшие – все остальные рассматриваемые годы. В пойменной дубраве этот показатель наиболее стабилен – с 1991 г. по 2009 г. он достигал 40% уровня и только в начале и конце изученного периода снижался до 10–25%. Таким образом, хорошо согласуются многолетние тренды выживаемости деревьев и доли деревьев 1-ой категории состояния в различных типах дубрав.

При изучении устойчивости деревьев и древостоев необходимо понять принципы естественного отбора деревьев и на их основе разработать методы оценки их жизнестойкости. В настоящее время проводится множество исследований состояния древостоев в неблагоприятных условиях среды. С этой целью оценивается жизненность деревьев обычно по методикам, сходным с официально принятой оценкой санитарного состояния древостоев. При этом размеры и развитие крон деревьев не учитываются, а лишь их текущая деградация (по наличию усохших ветвей). Однако, как известно из лесоводственной литературы, отмирание идет в основном за счет отставших в росте деревьев. Нами показано, что в снытево-осоковой дубраве отмирают в основном деревья узкокронного и, затем, зонтиковидного типа [Каплина, Селочник, 2009].

Из таблицы 2 следует, что доля деревьев раскидистого типа в 1985 г. близка во всех изученных древостоях, составляя 30–40%. В 2012 гг. в солонцовой и пойменной дубравах зафиксированы те же её величины. Меньшей долей раскидистых деревьев в 1985 г. отличается наименее продуктивное солонцовое насаждение. Учитывая, что его сомкнутость невелика, низкая доля раскидистых деревьев связана с неблагоприятными условиями роста. В снытево-осоковой дубраве доля раскидистых деревьев в 1985 г. была наиболее высокой – 40% (очевидно вследствие удаления деревьев узкокронного типа при рубках ухода). В 2011 г. она стала ниже, чем в других типах дубрав – 20%, в связи с повышенной конкуренцией.

Суммарная доля раскидистых и зонтиковидных деревьев существенно увеличилась за данный период в первых двух типах дубрав, в основном за счет отмирания узкокронных деревьев. В снытево-осоковом типе, напротив, эта величина (как и доля раскидистых деревьев) была наибольшей в 1985 г. и снизилась до наименьшей в 2011 г.

**Таблица 2**

**Структура древостоя по развитию крон деревьев в различных типах дубрав**

Показатель структуры древостоя	Солонцовая		Пойменная		Снытево-осоковая	
	1985 г.	2012 г.	1985 г.	2012 г.	1985 г.	2011 г.
Доля раскидистых деревьев, %	31	30	37	37	43	20
Доля раскидистых и зонтиковидных, %	50	77	44	86	88	66

Таким образом, по развитию крон заметно улучшение в первых двух типах дубрав и ухудшение в последнем, что также характеризует их устойчивость.

**Выводы.** Наиболее устойчивым оказался древостой в пойменной дубраве, а наименее устойчивым – в снытево-осоковой дубраве, как по величинам, так и динамике их показателей. Таким образом, конкуренция является весьма сильным фактором снижения устойчивости, даже в сравнении с повреждением листьев насекомыми, засолением, засухами и т.п. и может оказаться критическим фактором в неблагоприятные годы. Поддержание более низкой полноты древостоя в дубравах как солонцового, так и пойменного ландышево-ежевичного типа можно рассматривать как фактор устойчивости на уровне древостоя. Это способствует развитию крон деревьев, в т.ч. их восста-

новлению из спящих почек и, таким образом, повышению их устойчивости.

*Работа поддержана РФФИ (гранты 12-04-01347, 12-04-01077) и Программой фундаментальных исследований ОБН РАН «Биологические ресурсы России: Динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий».*

#### Литература

Каплина Н.Ф., Жиренко Н.Г. Динамика фитомассы листьев, состояния и развития крон деревьев нагорной дубравы юго-восточной лесостепи в неблагоприятных условиях последнего десятилетия // Вестник Поволжского государственного технологического университета. Серия: Лес. Экология. Природопользование, 2012. – № 2. – С. 3–11.

Каплина, Н.Ф., Селочник Н.Н. Морфология крон и состояние дуба черешчатого в средневозрастных насаждениях лесостепи // Лесоведение, 2009. – № 3. – С. 32–42.

Руководство по проектированию, организации и ведению лесопатологического мониторинга. Приложение 1 к приказу Рослесхоза от 29.12.2007, № 523.

Селочник Н.Н. Динамика фитопатологической ситуации в Теллермановском лесу (южная лесостепь Европейской России) в период 1983–1999 гг. // Лесной вестник, 2003. – № 2(27). – С. 54–59.

### **ТРАНСФОРМАЦИЯ СОСТАВА И СТРУКТУРЫ ФИТОЦЕНОЗОВ ПЕСЧАНЫХ ЭКОСИСТЕМ НА ПОБЕРЕЖЬЕ БАЙКАЛА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВЕДУЩИХ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ**

Л.Н. Касьянова

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, kasyin@sifibr.irk.ru

В статье рассматриваются основные экологические факторы, определяющие образование специфических комплексов растительных сообществ в песчаных экосистемах побережья Байкала.

Распространение песчаных экосистем на Байкале обусловлено развитием в отдельных местах его побережья мощных наносов эоловых песков. Образование этих участков песков связано с волновыми процессами и сильными ветрами, переносящими песок с береговых пляжей вглубь суши. В результате этих процессов, получивших особенно интенсивное развитие в эпоху голоцена, на берегах Байкала образовались эоловые отложения (дюнные пески) различной мощности и протяженности [Агафонов, 2002; Акулов, Агафонов, 2005]. Наибольшие современные очаги их развития находятся на северном берегу Байкала (остров Ярки, в районе Дагарской Губы), на восточном (побережье Баргузинского залива, губы Каткова и бухты Безымянной) и на западном (остров Ольхон).

Рельеф современных дюнных песков на побережье Байкала характеризуется определенным набором морфоструктур, возникших под влиянием различных морфодинамических процессов. Под воздействием волноприбойных процессов, ветровой эрозии и аккумуляции в береговой части массивов дюнных песков выработаны прибрежные пляжи, бары и лагуны. В результате дефляции и транзита песка воздушными потоками вглубь суши, на обширных пространствах этих массивов созданы разнообразные эоловые формы.

Динамика рельефа и неоднородность морфоструктур, порождаемые вышеназванными экзогенными процессами, а также различия в микроклимате отдельных геоморфологических элементов, создают в пространстве дюнных песков экотопическую неоднородность. Эта неоднородность предопределяет состав растений в ценозах, структуру

ценозов и размещение фитоценологических единиц на территории песков. Иными словами в пространственном размещении ценозов наблюдается закономерность, заключающаяся в приуроченности растений и фитоценозов к определенным элементам эолового рельефа (экотопам). В данной закономерности первостепенное значение имеет положение экотопа относительно господствующего направления ветра, поскольку максимальный перенос песчаного материала происходит в воздушном потоке этих масс. Затем, сила ветра, температура субстрата экотопа и мощность осаждаемого песчаного материала из воздушного потока. Все названные абиотические факторы, действующие внутри каждой песчаной экосистемы, образуют местный микроклиматический режим, который в конечном итоге определяет организацию фитоценологических единиц.

Между тем, если на сложение фитоценозов отдельных песчаных экосистем, оказывают воздействие их микроклиматические режимы, то на состав комплексов растительных сообществ развивающихся на всем побережье Байкала влияют климатические режимы мезо уровня. Мезоклиматические режимы, образующиеся в акватории озера Байкал и на склонах горных хребтов обрамляющих его котловину, создают разницу в атмосферном увлажнении на его берегах. В частности, неодинаковое атмосферное увлажнение обуславливает различие комплексов растительных сообществ, развивающихся на севере и востоке побережья Байкала, от комплексов фитоценозов расположенных на западе. Например, достаточное атмосферное увлажнение, существующее на северном и восточном побережьях Байкала, способствует поселению кедрового стланика (*Pinus pumila*) и образованию обширных его зарослей на дюнных песках острова Ярки, на побережьях Баргузинского залива, губы Каткова и губы Безымянной. В то время как на западном берегу Байкала, на дюнных песках острова Ольхон, при недостаточном атмосферном увлажнении, этот вид не встречается.

Фитоценологическую организацию растительности дюнных песков на побережье Байкала, рассмотрим подробно на примере девяти песчаных (полупустынных) экосистем острова Ольхон, как наиболее изученных в настоящее время (Касьянова и др., 2007). По своей эколого-фитоценологической организации растительности все элементарные песчаные экосистемы острова, как системы низкого уровня, составляют единую Ольхонскую полупустынную экосистему более высокого уровня.

Растительность полупустынной экосистемы острова Ольхон состоит из двух комплексов растительных сообществ степного и лесного типов.

Степной комплекс фитоценозов. Согласно иерархии растительных сообществ, все травянистые фитоценозы элементарных песчаных экосистем острова отнесены нами к степному типу растительности, подтипу песчаных степей, псаммофитному варианту. Как единица высокого ранга, псаммофитный вариант объединяет группировки и фитоценозы, состоящие из биоморф травянистых многолетников и полукустарничков.

Все псаммофитные группировки и фитоценозы, развивающиеся на песках, представляют собой структуры разных стадий развития. В пространстве песчаных экосистем они образуют экологические и фитоценологические ряды, которые отражают трансформацию состава растений в фитоценозах и смену доминирующих видов в них в порядке их фитоценологического усложнения.

Для различения фитоценологических единиц по сложению, главным отличительным признаком для них было принято проективное покрытие. Известно, что высокий показатель проективного покрытия растений указывает на оптимальные условия местопроизрастания растений и большое богатство видов растений в сообществе, а низкий – свидетельствует о крайних условиях среды обитания и небольшом разнообразии видов [Матвеева, 1998].

Одновременное существование на территории песчаных экосистем фитоценологических единиц разной организации от пионерных поселений (группировок) растений до

сложных (переходных и узловых) сообществ является следствием их экотопической неоднородности. Эти структуры отличаются между собой общим проективным покрытием травостоя и качеством местообитания (экотопа) на котором они развиваются (форма эолового рельефа, скрытость от ветра). В составе таких группировок и сообществ варьирует в основном обилие видов и число видов растений.

Пионерные (открытые) группировки образуют травостой с общим проективным покрытием от 5 до 20 %. Эта категория фитоценологических структур формируется на береговых пляжах и в ложбинах выдувания открытых навстречу ветру и перевиваемому песку. Растения в этих местообитаниях произрастают единично или небольшими группами.

Переходные группировки – характеризуются общим проективным покрытием до 30% и небольшим видовым разнообразием. Эти группировки развиваются на наветренных склонах дюн и бугров, аккумулятивных валах.

Узловые (заключительные) фитоценозы образуют травостой с общим проективным покрытием 40–60%. Данная категория фитоценозов развивается на разных по площади дефляционных плоскостях, на пологих склонах дюн и бугров укрытых от ветра. Эти структуры отличаются от других богатством ценофлоры и наличием подъярусов в травостое. В разных по типу узловых сообществах насчитывается от 5 до 37 видов растений, а в ассоциациях – от 28 до 90. В вертикальном сложении таких сообществ отмечается 2-3 подъяруса.

Лесной комплекс фитоценозов включает две категории структур.

1. Остепненные сосновые сообщества из *Pinus sylvestris* с участием *Larix sibirica*. Сообщества этого типа занимают небольшие участки в пространстве песчаных экосистем. Обычно их местообитания связаны с пологими склонами бугров и дюн, дефляционными плоскостями. По своему сложению сообщества представляют собой фрагменты остепненных сосновых лесов, развивающихся в восточной горной части острова. Сомкнутость крон в таких сообществах небольшая, 0,2–0,4. Подлесок и травянистый ярус в них не развиты. Деревья, составляющие лесные сообщества на песках, имеют диаметр от 20 до 100 см и более.

2. Одиночные деревья и группы деревьев из *Pinus sylvestris* и *Larix sibirica*, имеющих модифицированную жизненную форму (стланцевую, кустовидную, полупростратную и др.). Образование таких форм определено подвижным эоловым рельефом, засыпающим деревья на разной стадии их развития и сильным ветром, ломающим стволы и выдувающим песок из-под корней.

Модификации внешней формы деревьев на дюнных песках имеют приспособительный характер. Они возникают в ответ на воздействие факторов внешней среды песчаного пространства, как обусловленных, так и экстремальных.

Таким образом, ведущими экологическими факторами, влияющими на состав и структуру растительных сообществ песчаных экосистем побережья Байкала, являются динамичный рельеф эоловых песков и особенности ветрового режима территории. Ценофлора песков насчитывает 140 видов сосудистых растений, объединяющихся в 39 семейств и 91 род.

#### Литература

Агафонов Б.П. Ветровой литопоток из озера Байкал. // Доклады Академии Наук. 2002. – Т. 382, – № 5. – С. 688–691

Акулов Н.И., Агафонов Б.П. Эоловые пески на Байкале и их связь с ильменитовыми россыпями // Региональная геология и металлогения, 2005. – № 23. – С. 132–138.

Касьянова Л.Н., Азовский М.Г., Мазукабзов А.М. Структура растительности перевиваемых песков острова Ольхон (озеро Байкал) // Бюллетень МОИП, 2007, – Т. 112.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ *ELODEA DENSA* PLANCH.

М.Н. Кислицина, Г.Г. Борисова

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина,  
Екатеринбург, mariyakislitsina@yandex.ru

При действии неблагоприятных факторов живые системы способны вырабатывать различные защитно-приспособительные механизмы на всех уровнях организации. Выявление связей между анатомо-морфологическими характеристиками растений и условиями их обитания имеет особое значение в связи с возможностью прогнозирования ответных реакций видов на антропогенные воздействия.

К настоящему времени влияние химического состава среды обитания на структурно-функциональные характеристики растений изучено недостаточно. В литературе встречаются сведения о влиянии таких важных элементов минерального питания, как азот, калий и фосфор на анатомо-морфологическую структуру растений [Нагалецкий, 1981; Потокин, 1984]. Однако данные о влиянии загрязняющих веществ на параметры мезоструктуры растений весьма немногочисленны [Капитонова, 2002; Улицкая, 2004].

В связи с этим цель данной работы – выявление влияния фенольных соединений на некоторые анатомо-морфологические показатели водных растений (на примере *Elodea densa* Planch.).

В качестве объектов исследования использовали растения элодеи, выращенные на среде Хогланда-Арнона в течение двух месяцев с добавлением таких токсикантов органической природы как гидрохинон и резорцин в концентрациях 0 (контроль); 0,1; 1; 10 мг/л. Анатомо-морфологические показатели элодеи исследовали на фиксированном растительном материале. Фиксацию побегов элодеи производили в 3,5 % растворе глутарового альдегида, приготовленного на фосфатном буфере (рН 7,2) согласно методике [Мокроносков, 1978]. Определение анатомических показателей элодеи проводили в 3-х биологических повторностях. Размеры клеток и хлоропластов (площадь поверхности, объем), а также толщину листа на поперечных срезах определяли с использованием программного обеспечения Siam MesoPlant. Толщину листа определяли в 10-кратной повторности; размеры клеток и хлоропластов – в 30-кратной.

Первичный анализ данных и их статистическую обработку проводили с помощью программ Excel 7.0 и Statistica 8.0. Для оценки достоверности различий использовали непараметрический критерий Манна-Уитни при уровне значимости  $p < 0.05$ .

Наши исследования показали, что завершившие рост и дифференцировку функционально активные листья средней части вегетативных побегов *E. densa*, инкубированные при различных концентрациях токсикантов, отличались по ряду анатомо-морфологических параметров.

Установлено, что гидрохинон и резорцин оказали стимулирующее воздействие на рост *E. densa*: при всех концентрациях токсикантов был отмечен интенсивный прирост новых побегов. Наибольший прирост побегов элодеи наблюдался при концентрации гидрохинона и резорцина 10 мг/л. В случае с гидрохиноном за 2 месяца прирост был в 3 раза выше по сравнению с растениями из контрольного варианта.

Полученные результаты согласуются с литературными данными [Кирсо, 1988], в которых было отмечено рост стимулирующее влияние *o*-диоксифенолов на *E. canadensis*.

sis. В наших исследованиях была обнаружена подобная тенденция и в отношении диоксифенола (резорцина), на примере *E. densa*.

Площадь поверхности и объем клеток в листьях средней части вегетативных побегов *E. densa* также возрастали с увеличением концентрации гидрохинона. Максимальные значения указанных параметров были отмечены при концентрациях гидрохинона 1 и 10 мг/л. Резорцин приводил к увеличению площади поверхности и объема клеток, но уже при меньшей концентрации – 0,1 мг/л. При больших концентрациях резорцина достоверных отличий от контроля не обнаружено. В литературе имеются отдельные сведения о том, что гидрохинон в определенных концентрациях обладал рост стимулирующей активностью по отношению к колеоптилям кукурузы [Стом, 1970]. Вероятно, в случае с *E. densa* проявился аналогичный эффект. Отмечен достоверный прирост побегов и увеличение площади поверхности и объема клеток элодеи. Это можно трактовать как указание на существование определенной связи между действием диоксифенолов и индолилуксусной кислоты, как рост стимулирующего гормона.

Сравнительный анализ параметров мезоструктуры фотосинтетического аппарата *E. densa* показал, что количество хлоропластов в клетках возрастало с увеличением концентрации как гидрохинона, так и резорцина. Однако в вариантах с резорцином количество хлоропластов возрастало пропорционально концентрации лишь в вариантах, где его концентрация в среде была 0,1 и 1 мг/л. При концентрации 10 мг/л пропорционального возрастания количества хлоропластов в зависимости от концентрации резорцина не происходило.

Что касается параметров хлоропластов в клетках (площадь поверхности, объем) и толщины листа *E. densa*, то отчетливых тенденций обнаружено не было (ни в вариантах с гидрохиноном, ни в вариантах с резорцином).

Таким образом, наши данные свидетельствуют о том, что *E. densa* обладает способностью противостоять действию таких токсикантов, как гидрохинон и резорцин за счет изменения параметров мезоструктуры фотосинтетического аппарата.

Изучение анатомо-морфологических показателей гидрофитов в связи с фенольным загрязнением представляется важным для выявления видов, обладающих повышенным адаптивным потенциалом. Исследования в данном направлении дают научную основу для более эффективного использования высших растений в целях биологического мониторинга и фиторемедиации загрязненных водных объектов.

#### Литература

Капитонова О.А. Особенности анатомического строения вегетативных органов некоторых видов макрофитов в условиях промышленного загрязнения среды // Экология, 2002. – № 1. – С. 64–66.

Кирсо У.Э., Стом Д.И., Белых Л.И., Ирха Н.И. Превращение канцерогенных и токсических веществ в гидросфере. – Таллин: Валгус, 1988. – 271 с.

Мокронос А.Т., Борзенкова Р.А. Методика количественной оценки и функциональной активности фотосинтезирующих тканей и органов // Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции ВНИИ растениеводства, 1978. – Т. 61, вып. 3. – С. 119–133.

Нагалецкий В.Я., Николаевский В.Г. Экологическая анатомия растений: учебное пособие. – Краснодар: изд-во Кубанского гос. ун-та, 1981. – 88 с.

Потокин А.Ф. Влияние стоков промышленно-животноводческих комплексов на фотосинтетическую активность болотных растений. – Л.: ЛГУ, 1984. – 124 с.

Стом Д.И. Продукты окисления *o*-фенолов как ингибиторы роста растений: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Иркутский гос. ун-т им. А.А. Жданова. – Иркутск, 1970. – 27 с.

Улицкая Ю.Ю. Влияние интегрального технохимического загрязнения на анато-



мическое строение мезофилла листьев *Betula pendula* Roth. и *Tilia cordata* Mill // Экология промышленного региона и экологическое образование: сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции. – Нижний Тагил, 2004. – С. 54.

## ЗАВИСИМОСТЬ ГАЗООБМЕНА СФАГНУМА ОТ УРОВНЯ ГРУНТОВЫХ ВОД

А.Г. Молчанов, Т.Г. Молчанова

Институт лесоведения РАН, с. Успенское, Московская обл., a.georgievich@gmail.com

В настоящее время возник большой интерес к эмиссии и стоку  $\text{CO}_2$  в различных биогеоценозах. Однако до сих пор очень мало встречается исследований зависимости баланса  $\text{CO}_2$  и его составляющих от факторов окружающей среды.

Занимая значительную часть Российской Федерации, торфяные сфагновые болота представляют буферную систему для поддержания устойчивости биосферы [Заварзин, Дедыш, 2008]. На олиготрофных и мезотрофных болотах сфагновые мхи составляют до 80% надземной фитомассы и образуют 40–65% годичной продукции [Грабовик, 2001].

Без наблюдений, прежде всего за уровнем поверхностных грунтовых вод на естественных и различно осушенных болотах, нельзя надежно утверждать, способствует ли в конкретном регионе современный климат процессам разболачивания или усиления болотообразования [Вомперский, 2009].

В настоящей работе была исследована зависимость газообмена  $\text{CO}_2$  ненарушенного покрова сфагнума от различных параметров окружающей среды: температуры и влажности воздуха и солнечной радиации на фоне разных условий водообеспечения, которое выражали уровнем поверхностных почвенно-грунтовых вод (УГВ).

Исследования проводили в южной тайге в Ярославской области Угличского р-на в заболоченном пушицево-сфагновом сосняке с сомкнутость крон 0,3 на торфянисто-глеевой почве. Мощность торфяной залежи около 1 м. Моховой покров сплошной, с доминированием *Sphagnum fuscum*, наличием *Sph. medium* и *Sph. rubellum*.

Измерение эмиссии  $\text{CO}_2$  с поверхности сфагнума с почвой проводили по открытой схеме по методу Edwards и Sollins [1973] с помощью инфракрасного газоанализатора. Для этого участок поверхности почвы вместе с подушкой сфагнума (*Sph. fuscum*) накрывали прозрачной камерой диаметром 20 см и высотой 10 см, через которую над поверхностью почвы протягивали атмосферный воздух со скоростью 60–100 л/час. Такая же камера была установлена рядом, и на такой же подушке, но без зеленой части сфагнума, т.е. определяли эмиссию  $\text{CO}_2$  с поверхности "очёса". Разницу между этими камерами приняли за газообмен сфагнума. Показания газоанализатора регистрировались логгером (EMS, Чехия) одновременно с температурой почвы и воздуха и радиационного режима каждые 20 секунд. Регистрация показаний газообмена  $\text{CO}_2$  проводилась непрерывно круглосуточно с помощью изготовленного нами автоматического устройства для сбора данных газообмена растений, которое управляется логгером. Газообмен  $\text{CO}_2$  рассчитывался по формуле:

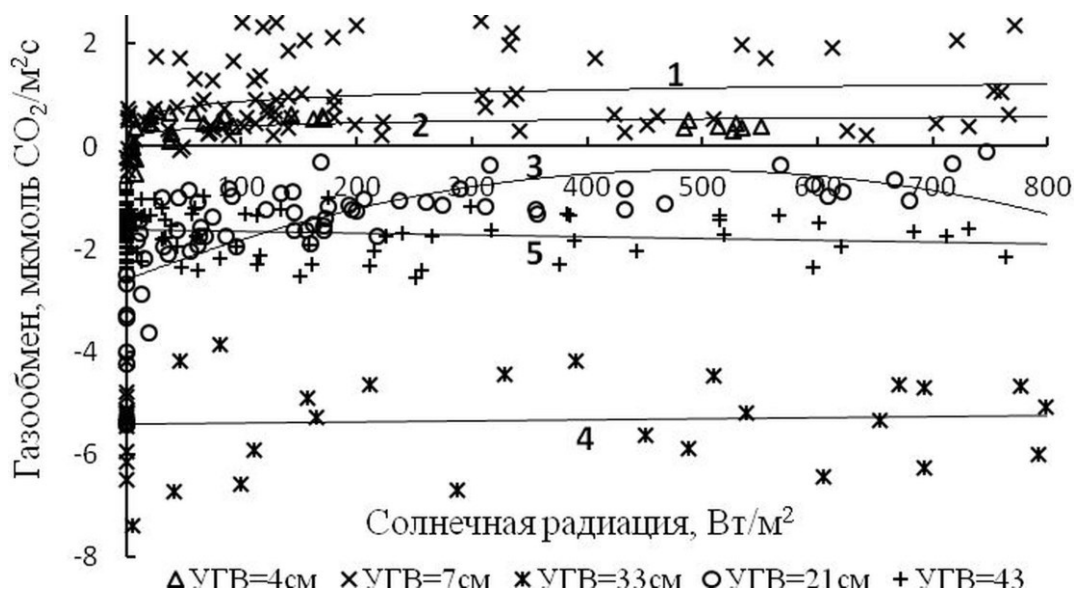
$$G_{sph} = (C_b - C_{control})F/S\alpha,$$

где  $G_{sph}$  – газообмен  $\text{CO}_2$  (в мкмоль / (м<sup>2</sup>с)),  $C_b$  и  $C_{control}$  – концентрации  $\text{CO}_2$  в камере и окружающем воздухе вблизи камеры, соответственно (мг л<sup>-1</sup>),  $F$  – поток воздуха через камеру (л ч<sup>-1</sup>),  $S$  – площадь поверхности подушки сфагнума в камере (м<sup>2</sup>) и  $\alpha = 0.0063$  – постоянный коэффициент.

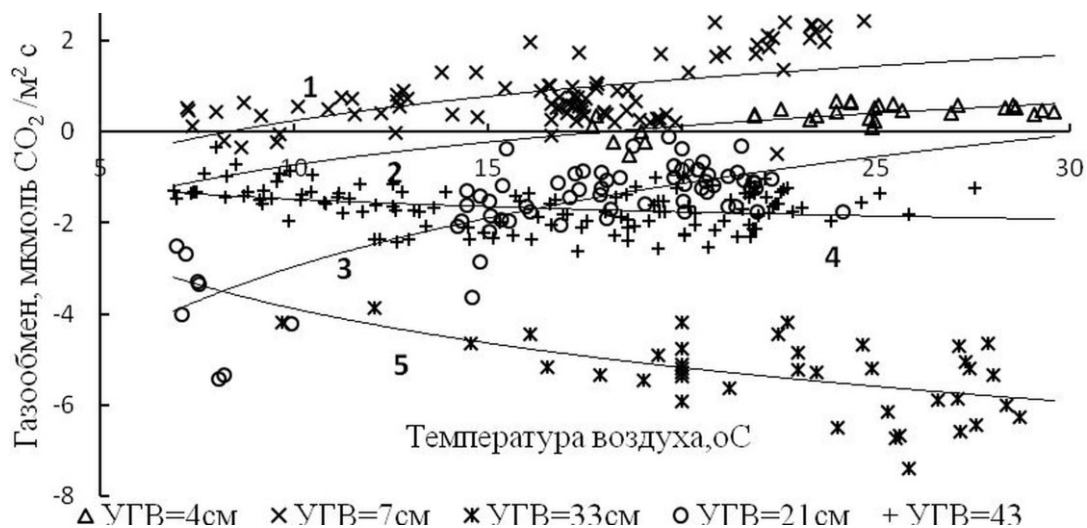
Газообмен  $\text{CO}_2$  с поверхности подушки сфагнума измеряли несколько раз за вегетационный период, когда УГВ был на разных глубинах: в мае 2009 г. – 4 см, в июне 2009 г. – 7 см, в июле 2009 г. – 32 см, в августе 2009 г. – 21 см и в августе 2010г. – 43

см.

В условиях, когда УГВ стоит на глубине 7 см в дневные часы при переменной облачности и интенсивности ФАР = 1000–600 мкмоль/м<sup>2</sup>с, поверхность сфагнома поглощает CO<sub>2</sub> (1–2 мкмольCO<sub>2</sub>/ м<sup>2</sup>с), с наступлением вечера, когда ФАР составляет около 100 мкмоль/м<sup>2</sup>с происходит выделение CO<sub>2</sub> с поверхности сфагнома, в среднем около 0.5 мкмольCO<sub>2</sub>/ м<sup>2</sup>с.



**Рис. 1.** Зависимость газообмена CO<sub>2</sub> сфагнома от солнечной радиации: 1 – июнь при УГВ=7см; 2 – май при УГВ= 4см; 3 – август 2009 г при УГВ=21 см; 4 – июль при УГВ= 33 см; 5 – август 2010г при УГВ=43см.



**Рис. 2.** Зависимость газообмена CO<sub>2</sub> сфагнома от температуры воздуха: 1 – июнь при УГВ=7см; 2 – май при УГВ= 4см; 3 – август 2009 г при УГВ=21 см; 4 – август 2010г при УГВ=43см; 5 – июль при УГВ= 33 см.

Результаты экспериментальных исследований показали значительную изменчивость CO<sub>2</sub>-обмена с поверхности сфагнома от прихода солнечной радиации при разных уровнях грунтовых вод (рис.1). Когда уровень грунтовых вод (УГВ) находится на небольшой глубине от поверхности (4–7см), наблюдается поглощение CO<sub>2</sub> сфагнумом из атмосферы, это выражается логарифмической зависимостью от солнечной радиации и при солнечной радиации свыше 100 Вт м<sup>-2</sup> величина поглощения CO<sub>2</sub> составляет 0.5–

1.0 мкмоль  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ . С опусканием УГВ до 21 см газообмен также имеет логарифмическую зависимость от солнечной радиации, только в этом случае наблюдается уже эмиссия  $\text{CO}_2$  с поверхности сфагнома и которая составляет от  $-0.3$  до  $-3$  мкмоль  $\text{CO}_2 \text{ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ . С дальнейшим опусканием грунтовых вод эмиссия  $\text{CO}_2$  увеличивается и составляет около  $-5$  мкмоль  $\text{CO}_2 \text{ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ , при этом зависимости от солнечной радиации не наблюдается. С опусканием УГВ до 43 см эмиссия  $\text{CO}_2$  с поверхности сфагнома снова уменьшилась и составила около  $-1.5$  мкмоль  $\text{CO}_2 \text{ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ .

С изменением температуры воздуха при УГВ = 4 см, когда вода стоит почти на поверхности, газообмен  $\text{CO}_2$  с поверхности сфагнома изменяется от  $-1.0$  до  $+0.5$  мкмоль  $\text{CO}_2 \text{ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ . В этих условиях при температуре (Т) около  $17^\circ\text{C}$  наблюдается переход от эмиссии к поглощению  $\text{CO}_2$  с поверхности сфагнома (рис. 2). С опусканием УГВ до 7 см с увеличением температуры воздуха поглощение  $\text{CO}_2$  сфагнумом постепенно увеличивается и при  $T = 25^\circ\text{C}$  достигает 1.5 мкмоль  $\text{CO}_2 \text{ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ . При уровне грунтовых вод 21 см с поверхности сфагнома наблюдается такая же логарифмическая зависимость газообмена  $\text{CO}_2$  от температуры, как и при УГВ = 7 см, но уже наблюдается эмиссии  $\text{CO}_2$ , которая изменяется от  $-4$  мкмоль  $\text{CO}_2 \text{ м}^{-2}\text{с}^{-1}$  при  $T = 7^\circ\text{C}$  до  $-1$  мкмоль  $\text{CO}_2 \text{ м}^{-2}\text{с}^{-1}$  при  $T = 25^\circ\text{C}$ . При опускании УГВ до 33 см эмиссия  $\text{CO}_2$  с поверхности сфагнома значительно выросла и составила в зависимости от температуры от  $-4$  до  $-6$  мкмоль  $\text{CO}_2 \text{ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ . При УГВ = 43 см эмиссия  $\text{CO}_2$  с поверхности сфагнома слабо зависит от температуры и изменяется от  $-3$  до  $-4$  мкмоль  $\text{CO}_2 \text{ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ . По-видимому, в этих условиях эмиссия  $\text{CO}_2$  в основном производится нижними, еще влажными, слоями почвы.

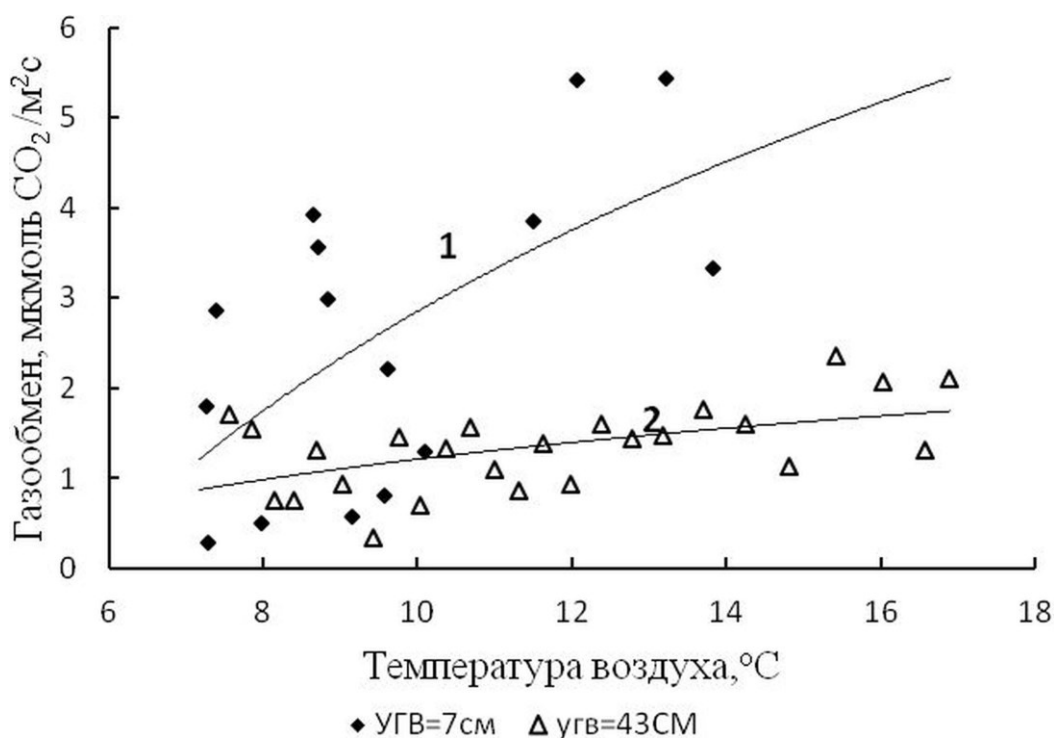


Рис. 3. Зависимость эмиссии  $\text{CO}_2$  с поверхности сфагнома от температуры ночью в период с 15–16.06.2009 г при УГВ=7см (1), и в период с 21–25.08.2011 г при УГВ=43см соответственно (2).

Таким образом, когда УГВ опускается ниже 43 см, жизнедеятельность сфагнома практически затухает. Это положение в какой-то мере подтверждается зависимостью эмиссии  $\text{CO}_2$  с поверхности сфагнома от температуры, полученной в ночной период (рис. 3), когда освещенность не влияла на жизнедеятельность. При УГВ = 7 см при увеличении температуры воздуха с 7 до  $15^\circ\text{C}$  эмиссия с поверхности сфагнома увеличи-

лась более чем в три раза, с  $-1.5$  до  $-5$  мкмоль  $\text{CO}_2 \text{ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ , а при УГВ = 43 см при изменении температуры с  $7$  до  $18^\circ\text{C}$  с поверхности сфагноума эмиссия увеличилась незначительно с  $-1$  до  $-1.5$  мкмоль  $\text{CO}_2 \text{ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ .

#### Литература

Вомперский С.Э. Влияние современного климата на болотообразование и гидролесомелиорацию // Структура и функции лесов Европейской России / Отв. ред. И.А. Уткина. Ин-т лесоведения РАН. – М.: ТНИ КМК, 2009. – С. 31–51.

Грабовик С.И. Флуктуации продуктивности сфагновых мхов // Лесные стационарные исследования: методы, результаты, перспективы. Материалы совещания. / Отв. ред. С.Э. Вомперский, М.Г. Романовский, А.А. Сирин. – Тула: Гриф и К°, 2001. – С. 343–345.

Заварзин Г.А., Дедыш С.Н. Микробные процессы в болотных экосистемах: изменения природных вод под влияние деятельности микроорганизмов // Изменение окружающей среды и климата природные и связанные с ними техногенные катастрофы: Т. IV / Пред. ред. кол.: Н.П. Лаверов РАН. – М.: ИФЗ РАН, 2008. – С. 80–96.

Edwards N.T., Sollins P. Continuous measurement of carbon dioxide evolution from partitioned forest floor components // Ecology, 1973. – V. 54. – № 2. – P. 406–412.

### ОРГАНИЗМЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ БОЛЕЗНИ ХВОЙНЫХ ПОРОД В БАЙКАЛЬСКОЙ СИБИРИ

Т.И. Морозова

Иркутская межобластная ветеринарная лаборатория, Иркутск  
Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, ti.morozova@mail.ru

Фитопатологические обследования лесов проводятся в Байкальской Сибири более 30 лет. Опубликовано более 100 статей посвященных грибным заболеваниям [Соколова, 1988; Петров, 1991; Mогозова, Tkacz, 1997 и т. д.]. При многолетних изучениях фитопатологической ситуации в лесах нами разработаны методы исследований, применяемые в лесной фитопатологии в Байкальской Сибири, в их описании нами не учитывались симптомы повреждений, вызванные бактериальными болезнями [Морозова, 2003]. Для региона актуальны исследования насекомых-вредителей и грибных болезней леса, поскольку они являются существенным фактором, повреждающим древесные породы. На ряде лесопокрытых территорий нередки массовые грибные эпифитотии и размножения насекомых-дендрофагов. Выявлено более 200 видов грибов, имеющих фитопатогенную значимость, исследована динамика вызываемых ими патологических процессов, разработаны методы диагностирования некоторых болезней.

Показано, что в ослабленных древостоях создаются благоприятные условия для размножения черного пихтового усача *Monochamus urusovi* Fisch. [Рожков и др., 1983]. При дополнительном питании которого в кронах деревьев открываются ворота грибным и бактериальным инфекциям, вследствие чего усиливается зараженность хвойных деревьев. Кроме того, стволовые вредители распространяют сосновую нематоду *Bursaphelenchus mucronatus* Mamia & Enda. Этот возбудитель нематодной болезни хвойных деревьев в Иркутской области впервые был выявлен и определен нами в 2000 г. Нематода была обнаружена в щепе разных хвойных пород – сосны, лиственницы, пихты, кедра, ели [Морозова, Ломакин, 2005].

Следует отметить, что поражение древесных пород Байкальского региона фитопатогенными бактериями отмечалось нами неоднократно, начиная еще с 1980-х годов.

Так, при обследовании древостоев темнохвойных пород мы наблюдали ярко выраженные симптомы бактериальной водянки. Выделялось несколько типов повреждения: на пихтовом подросте отмирание нижней трети кроны, на стволах продольные трещины, образуются язвы, вздутия, отмечается истечение смолы и экссудата. Хвоя на поврежденных ветвях провисает и усыхает, но не осыпается в течение вегетационного периода. Серые «флаги» висят до следующего вегетационного периода. На кедре отмирание начинается снизу, образуется отслаивание коры с обнажением заболони, клиновидные раны, обильное смолотечение, растрескивание вдоль ствола. Происходит нарушение водного обмена дерева, при размножении бактерий в древесине. Насыщенный водой ствол, при замерзании сильно растрескивается и в начале зимы, когда ствол полностью промерз, из трещин вытекает экссудат. На деревьях ослабленных бактериозом сохраняется хвоя одного–двух лет, и начинает отмирать одна треть хвоинок повреждение типа – ожог хвои. Обильное смолотечение на стволах зараженных деревьев наблюдается у всех хвойных пород.

Были отобраны образцы по типу поражения с поврежденных деревьев, визуальная диагностика подтверждена бактериологическими анализами. Полученные результаты подтверждают данные о причинах одного из наиболее опасных заболеваний лесных пород – бактериальной водянки хвойных – *Erwinia nimipressuralis* (Carter).

Таким образом, болезни леса могут быть обусловлены действием целого ряда возбудителей. Для их выявления необходима организация непрерывного лесопатологического мониторинга, который должен основываться на использовании широкого спектра современных методов – биохимических, микологических, энтомологических, бактериологических, гельминтологических.

Бактериальное заболевание лесов проявляется при начальном ослаблении лесов засухами. В последующие годы, происходит увеличение количества осадков, теплые зимы с обильными снегопадами, благоприятны для накопления бактериальной инфекции. Ослабленные деревья затем заселяются стволовыми вредителями, сосновой нематодой, хвоя и ветви пораженных лесов заселяются грибами.

Цепочка распада древостоя состоит из: 1. неблагоприятных климатических условий; 2. размножение бактерий; 3. размножение в очагах ослабленных бактериальной водянкой грибных болезней; 4. заселение пораженных деревьев стволовыми вредителями; 5. размножение в древесине сосновой нематоды; 6. усыхание пораженного древостоя.

Распространению инфекции способствуют биотические факторы: насекомые, млекопитающие, птицы, рекреационная нагрузка и различные механические повреждения ветвей и стволов деревьев. При проведении лесоустроительных работ бактериозы либо вообще не учитываются, либо очень приблизительно приводят их симптоматику, распространенность и вредоносность. Ошибки в диагностике, установлении первопричины заболевания очень часто приводят к тяжким последствиям, с одной стороны недооценка вредоносности бактериозов древесных, а с другой трудности в постановке таких исследований [Гойчук, 1984].

В Байкальской Сибири следует провести комплексное обследование лесов на выявление очагов бактериальной водянки и разработать методы мониторинга данного заболевания в регионе.

#### Литература

Гойчук А.Ф. Бактериальные болезни дуба черешчатого в лесостепи УССР Киев, 1984. – 176 с. : ил РГБ ОД 61:85-3/1455.

Морозова Т.И. Методы исследований, применяемые в лесной фитопатологии в Байкальской Сибири. Иркутск: ООО оперативная типография «На Чехова», 2003. – 35

с.

Морозова Т.И., Ломакин А.Н. Распространение хвойной древесной нематоды в Иркутской области // Природная и антропогенная динамика наземных экосистем. – Иркутск: Изд-во Иркутского государственного технического университета, 2005. – С. 107–110.

Петров А.Н. Конспект флоры макромицетов Прибайкалья. – Новосибирск: Наука, 1991. – 81 с.

Рожков А.С. Усыхание горных темнохвойных лесов южного и юго-восточного побережий оз. Байкал / А.С.Рожков, М.К.Соков, Г.И.Массель и др. – Иркутск: СИФИБР СО АН СССР, 1983. – 61 с.

Рожков А.С., Морозова Т.И. Роль черного пихтового усача в усыхании Прибайкальских темнохвойных лесов, ослабленных промышленными выбросами Экологическая роль горных лесов. – Бабушкин. 1986. – С. 162–163.

Соколова Э.С. Фитопатогенные грибы древесных пород Байкальского заповедника // Растительность хребта Хамар-Дабан. – Новосибирск: Наука, 1988. – С. 105-112.

Morozova T.I., Tkacz V. Eastern Siberia and the Russian Far East // Compendium of conifer diseases. – Amer. Phytopatol. Soc., 1997. – P. 77–79.

## **ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КЛИМАТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ВЕГЕТАЦИИ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ КЛИМАТА**

Л.Ю. Новикова

ГНУ ВНИИР им. Н.И. Вавилова Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, l.novikova@vir.nw.ru

Одним из важнейших факторов, влияющих на состояние современных агроценозов, являются изменения климата, его дестабилизация. Большинство современных сортов интенсивного типа отличается относительно низкой стабильностью урожайности, они дают большие урожаи, чем традиционные, но в более узком диапазоне внешних условий. В стратегическом планировании устойчивого развития сельскохозяйственного предприятия важное место отводится прогнозированию, развитию комплекса моделей в соответствии с возможным ансамблем реализаций внешней, в частности климатической, ситуации.

Начавшееся в 70-х гг. XX века глобальное потепление вызвало изменение биоклиматического потенциала регионов. Тренды агроклиматических характеристик локальны и различны в различных регионах (Гордеев и др. 2008; Мищенко З.А., 2009): к середине XXI века прогнозируется рост урожайности зерновых на 10–20% в северных регионах Европейской территории России с достаточным увлажнением и снижение на 6–26% в южных (Гордеев и др., 2008).

Нами была проанализирована динамика продолжительности вегетации стандартных сортов овса и яровой пшеницы за последние 30 лет на четырех контрастных по климатическим условиям станциях института растениеводства им. Н.И. Вавилова (Новикова и др., 2011, 2012). Анализ климатических изменений проводился для станций ВИР: Пушкинские лаборатории (Северо-Западный регион, г. Пушкин, Санкт-Петербург, 1954–2012 гг.), бывшее (до 2008 г.) Московское отделение (Центральный регион, п. Михнево, Московская обл., 1976–2006 гг.), Екатерининская опытная станция (Центрально-Черноземный регион, п. Екатеринино, Тамбовская обл., 1976–2009 гг.), Кубанская опытная станция (Северо-Кавказский регион, п. Ботаника, Краснодарский край, 1925–2009 гг.). На всех четырех исследованных станциях ВИР с 1980 г. наблю-

дался рост летних температур и слабое (незначимое статистически) увеличение осадков. В Северо-Западном и Северо-Кавказском регионах увеличилась продолжительность периода с температурами, благоприятными для вегетации овса и пшеницы – от 5 до 15°C. Продолжительность вегетации исследованных сортов овса и пшеницы сокращалась в Северо-Западном регионе, слабо увеличивалась в остальных.

Были построены регрессионные зависимости продолжительности вегетационного периода (L) стандартных сортов овса и пшеницы от агроклиматических характеристик. Точность уравнений характеризуется коэффициентом детерминации уравнения  $R^2$ , показывающим, какую долю вариабельности продолжительности вегетации удалось объяснить данной регрессионной моделью. Значение  $R^2$  больше 0.5 (т.е. коэффициент множественной корреляции больше 0.7) означает, что модель объясняет большую часть изменчивости и пригодна для анализа и прогнозирования.

В условиях Северо-Западного региона важнейшим фактором явилось повышение сумм эффективных температур за период устойчивого перехода через 15°C ( $\Sigma T_{\text{эф}15}$ ):

Овес Боррус:	$L=110.614-0.101\Sigma T_{\text{эф}15}$	$R^2=0.65$
Пшеница Ленинградка:	$L=108.809-0.083\Sigma T_{\text{эф}15}$	$R^2=0.60$

Изменения климата происходят на фоне агротехнических трендов. В Центральном регионе было обнаружено положительное влияние неклиматического, предположительно агротехнического, воздействия, выразившееся в зависимости продолжительности вегетации исследованных сортов от времени (t – номер года от 1975 г.). Кроме того, на межгодовую изменчивость влияло изменение продолжительности периода с температурами 10–15°C ( $L_{10\_15}$ , сут.) весной – в начале лета:

Овес Гамбо:	$L=85.905-0.036\Sigma T_{\text{эф}15}+0.073L_{10\_15}+0.408t$	$R^2=0.61$
Овес Немчиновский 2:	$L=87.215-0.029\Sigma T_{\text{эф}15}+0.363t$	$R^2=0.66$
Пшеница Московская 35:	$L=88.825-0.060\Sigma T_{\text{эф}15}+0.077L_{10\_15}+0.539t$	$R^2=0.62$

В засушливых условиях Центрально-Черноземного региона значительное влияние оказал рост осадков за период устойчивого перехода температур через 15°C ( $R_{15}$ , мм), он привел к увеличению продолжительности вегетации зерновых.

Овес Горизонт:	$L=84.512-0.034\Sigma T_{\text{эф}15}+0.061R_{15}$	$R^2=0.66$
Пшеница Кутулукская:	$L=93.777-0.027\Sigma T_{\text{эф}15}+0.031R_{15}$	$R^2=0.60$

В Северо-Кавказском регионе помимо роста температур, существенным оказался продолжительность периода с температурами 5–15°C весной – в начале лета ( $L_{5\_15}$ , сут.):

Овес Краснодарский 73:	$L=100.791-0.022\Sigma T_{\text{эф}15}+0.153L_{5\_15}$	$R^2=0.52$
Овес Otter:	$L=79.484+0.364L_{5\_15}$	$R^2=0.56$

Схожесть спецификаций моделей для каждого пункта позволила предложить объединенные в разностях модели исследованных сортов для каждого региона. Модели в разностях рассматривают зависимость скорости изменений продолжительности вегетации от скорости изменения климатических характеристик (Елисеева, 2007). Модели в разностях позволяют 1) избавиться от неклиматических влияний и 2) объединить модели для тех сортов, которые отличаются продолжительностью вегетации, но скорости реакции на внешние воздействия имеют одинаковые.

Северо-Западный:	$\Delta L=0.262-0.097\Delta\Sigma T_{\text{эф}15}$	$R^2=0.67$
Центральный:	$\Delta L=0.836-0.052\Delta\Sigma T_{\text{эф}15}+0.145\Delta L_{10\_15}$	$R^2=0.53$
Центрально-Черноземный:	$\Delta L=0.899-0.034\Delta\Sigma T_{\text{эф}15}+0.014\Delta R_{15}$	$R^2=0.58$
Северо-Кавказский:	$\Delta L=-0.851+0.242\Delta L_{5\_15}-0.013\Delta\Sigma T_{\text{эф}15}$	$R^2=0.52$

Свободный член в этих уравнениях показывает скорость изменения продолжительности вегетации при отсутствии изменений климатических характеристик. По моделям без свободного члена уравнений были рассчитаны климатически обусловленные прогнозы для скоростей изменений продолжительности вегетации (Таблица) в случае

сохранения тенденций изменений климатических характеристик, наблюдаемых с 1980 г. Климатически обусловленный прогноз для всех пунктов отрицателен из-за решающего значения роста температур по сравнению с другими факторами. Частично этот эффект может быть компенсирован ростом осадков, более ранним посевом при более раннем наступлении весны, агротехническими воздействиями.

**Таблица**

**Фактические и расчетные оценки скоростей изменения агроклиматических характеристик и продолжительности вегетации исследованных сортов овса и пшеницы с 1980 г.**

Регион	Климатические характеристики				Продолжительность вегетации, сут./год	
	$\Sigma T_{эф15}^*$ , °C/год	$R_{15}$ , мм/год	$L_{5_15}$ , сут./год	$L_{10_15}$ , сут./год	Факт.	Климатически обусловленный прогноз
Северо-Западный	<u>5.23</u> **	2.42	<u>0.53</u>	0.47	-0.55	-0.51
Центральный	<u>7.93</u>	0.12	-0.12	-0.12	0.16	-0.43
Центрально-Черноземный	<u>8.15</u>	<u>5.67</u>	0.03	0.03	0.07	-0.20
Северо-Кавказский	<u>8.93</u>	0.77	0.43	0.06	0.31	-0.01

\*Обозначения:

$\Sigma T_{эф15}$  – сумма эффективных температур за период устойчивого перехода через 15°C;

$R_{15}$  – сумма осадков за период устойчивого перехода температур через 15°C, мм;

$L_{10_15}$ ,  $L_{5_15}$  – продолжительность периода между датами устойчивого перехода температур через 10 и 15°C, 5 и 15°C весной, сут.

\*\*Подчеркнуты значимые тренды.

Объединив предикторы, по всем 189 наблюдениям получили модель влияния климатических факторов на скорость изменения продолжительности вегетации ( $\Delta L$ ) изученных сортов овса и пшеницы на ЕТ РФ:

$$\Delta L = 0.216 - 0.046 \Sigma T_{эф15} + 0.189 L_{5_15} + 0.010 R_{15} \quad R^2 = 0.53$$

Это хорошо детерминированное уравнение позволяет оценить роль отдельных агроклиматических факторов в вариабельности наблюдавшихся изменений продолжительности вегетации исследованных сортов: 40% из 53% объясняется ростом температур, 12% – вариабельностью периода с температурами 10–15°C, и только 1% – изменением осадков.

Таким образом, решающим фактором изменчивости продолжительности вегетации изученных сортов овса и пшеницы являются температуры. Рост сумм эффективных температур выше 15°C вызывает сокращение вегетации районированных ранее сортов. В случае продолжения наблюдающихся тенденций изменения климатических характеристик на ЕТ РФ будут востребованы более позднеспелые, чем районированные сейчас, культуры и сорта.

#### Литература

Гордеев А.В. и др. Биоклиматический потенциал России: меры адаптации в условиях изменяющегося климата. – М., 2008.

Мищенко З.А. Агроклиматология. – Киев: КНТ, 2009. – 512 с.

Новикова Л.Ю., Дюбин В.Н., Лоскутов И.Г., Зуев Е.В, Сеферова И.В. Прогноз динамики хозяйственно ценных признаков сортов зерновых культур в условиях изменения климата // Методы оценки сельскохозяйственных рисков и технологии смягчения последствий изменения климата в земледелии. – СПб.: Изд-во АФИ, 2011. – С. 176–179.



Новикова Л.Ю., Дюбин В.Н., Сеферова И.В., Лоскутов И.Г., Зуев Е.В. Прогнозирование продолжительности вегетационного периода сортов яровых зерновых культур в условиях изменения климата // Сельскохозяйственная биология, 2012. – №5. – С.78–87.

## **ИЗМЕНЕНИЕ НЕТТО CO<sub>2</sub> ОБМЕНА И ЭВАПОТРАНСПИРАЦИИ ТАЕЖНЫХ ЛЕСОВ ЕВРОПЕЙСКОЙ ТЕРРИТОРИИ РОССИИ ПРИ КЛИМАТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЯХ**

А.В. Ольчев

Институт Проблем Экологии и Эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, aoltche@yandex.ru

Структура, видовой состав и продуктивность лесов определяются комплексом факторов, основная роль среди которых принадлежит климату. Приходящая солнечная радиация, температура и влажность воздуха, условия почвенного увлажнения регулируют процессы фотосинтеза, дыхания и транспирации, определяя закономерности роста и развития растений. Современные изменения климата, сопровождающиеся ростом температуры воздуха, изменениями условий увлажнения земной поверхности и газового состава атмосферы, очевидно, могут оказать существенное влияние на течение биофизических и биохимических процессов в растениях и почве, и как следствие привести к изменениям интенсивности H<sub>2</sub>O и CO<sub>2</sub> обмена между растениями и окружающим воздухом (IPCC 2007). В долгосрочной перспективе это может повлиять на устойчивое развитие лесов, привести к изменениям их видового состава и ареалов различных видов. Обладая высокой чувствительностью к изменениям условий внешней среды, леса, в свою очередь, оказывают существенное обратное влияние на климат. Активно поглощая CO<sub>2</sub> из атмосферы в процессе фотосинтеза, аккумулируя углерод в надземной и подземной биомассе, и удерживая его в связанном состоянии на протяжении значительного промежутка времени, леса поддерживают естественный баланс CO<sub>2</sub> в атмосфере, снижая негативное влияние парникового эффекта. Они оказывают также существенное влияние на тепловой и водный режим земной поверхности и приземного слоя воздуха, защищая земную поверхность от излишнего перегрева в летнее время и регулируя процессы испарения. Сохраняя влагу, поступившую с атмосферными осадками, леса способствуют формированию устойчивого речного стока.

В рамках исследования на примере еловых лесов южной тайги Европейской территории России выполнена оценка чувствительности составляющих CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O обмена лесных экосистем к прогнозируемым изменениям климатических условий в 21 веке по результатам модельных расчетов. Данные об изменении нетто-обмена CO<sub>2</sub> (*NEE*) и суммарного испарения (эвапотранспирации, *E*) при изменении условий внешней среды позволяют оценить возможную реакцию исследуемых лесных экосистем на внешние воздействия, а также определить потенциальный вклад лесов южной тайги в изменение баланса парниковых газов в атмосфере к концу 21 века.

Для решения поставленной задачи в исследовании используется математическая процесс-ориентированная модель MixFor-SVAT (Ольчев и др., 2008, Oltchev et al., 2002). Данный класс моделей является уникальным инструментом в исследованиях CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O обмена между земной поверхностью и атмосферой, позволяющим не только оценить потоки и охарактеризовать их пространственно-временную изменчивость, но также и спрогнозировать возможную реакцию растительных сообществ на изменения внешних условий, что не может быть выполнено с использованием лишь результатов экспериментальных наблюдений. Основным преимуществом MixFor-SVAT модели является ее способность не только описать сезонную и суточную изменчивость инте-

гральных потоков  $H_2O$  и  $CO_2$  на уровне всей экосистемы, но также и адекватно оценить вклад почвы, лесной подстилки, а также деревьев разных пород в суммарные потоки с учетом их индивидуальных биофизических особенностей. Применение в модели для описания процесса фотосинтеза подхода Фаркхара (Farquhar et al., 2008) позволяет проводить расчеты скорости ассимиляции  $CO_2$  растениями с учетом возможных изменений запасов минеральных веществ в растениях и почве, а также содержания  $CO_2$  в воздухе. Проверка адекватности модели была выполнена с использованием результатов полевых измерений потоков тепла,  $H_2O$  и  $CO_2$  в различных типах лесных и травянистых экосистем и показала хорошее согласование модельных и экспериментальных результатов для различных условий внешней среды и почвенного увлажнения (Oltchev et al., 2002, Olchev et al., 2008).

В качестве модельного объекта в исследовании были выбраны монодоминантные спелые еловые леса подзоны южной тайги, произрастающие на хорошо дренированных дерново-подзолистых почвах в верховьях Волги на юге Валдайской возвышенности в центральной части Европейской территории России. Расчеты годовой динамики  $CO_2$  и  $H_2O$  обмена для модельного елового леса при современных климатических условиях были выполнены с использованием осредненного для исследуемой территории годового хода метеорологических параметров. Среднегодовые значения температуры ( $5^\circ C$ ), удельной влажности ( $4.6 \text{ г кг}^{-1}$ ) и осадков (700 мм) соответствовали средним климатическим величинам, полученным для исследуемой территории в период с 2000 по 2010 год. Для прогноза будущих климатических условий в исследовании были использованы данные расчетов по глобальной модели ECHAM5. В качестве базового сценария будущих климатических изменений был выбран умеренный эмиссионный сценарий A1B МГЭИК. Возможные изменения видового состава растительности, вызванные изменениями климата к концу 21 века, были оценены с использованием метода палеоаналогов, позволяющим на основе реконструкций климатических условий и растительности в прошлые эпохи, оценить возможные изменения структуры и видового состава растительности в будущем. Предполагалось, что прогнозируемое увеличение среднегодовой температуры воздуха на исследуемой территории к концу 21 века на  $3.4^\circ C$  и количества осадков на 20% может привести к частичному замещению ели в древостоях мелколиственными (береза, осина) и широколиственными (липа, дуб, вяз) породами деревьев (Olchev et al., 2009). Для учета влияния изменения минерального состава почв на продуктивность древостоев в модельных экспериментах было использовано также несколько сценариев, предполагающих уменьшение количества необходимого для сбалансированного питания растений доступного почвенного азота. Возможные изменения количества надземной и подземной биомассы древесных растений, вызванных изменениями внешней среды к концу 21 века, в численных экспериментах учитывались через изменения величины листового индекса (*LAI*), диаметра стволов и плотности тонких корней деревьев. При расчетах также было сделано предположение, что значения основных биофизических параметров, характеризующих процессы  $CO_2$  и  $H_2O$  обмена древесных пород при будущих климатических условиях будут соответствовать их современным значениям.

Результаты проведенных экспериментов показали высокую чувствительность составляющих  $CO_2$  и  $H_2O$  обмена исследуемых еловых лесов к прогнозируемым изменениям климатических условий, возможным изменениям видового состава древостоев и запасов минеральных веществ в растениях к концу 21 века. При условии, если прогнозируемый рост содержания  $CO_2$  в воздухе будет сбалансирован увеличением запасов минеральных веществ и, прежде всего, азота в почвенном покрове и надземной биомассе, изменения климатических условий к концу 21 века могут привести к существенному росту *NEE* (на 30–65%) и *E* (на 3–10%), особенно в случае замещения ели лиственными

породами деревьев. Данная закономерность обусловлена, как увеличением скорости ассимиляции углерода деревьями при увеличении содержания  $\text{CO}_2$  и росте температуры, так и более высокой скоростью фотосинтеза лиственных пород деревьев. Прогнозируемое относительно небольшое увеличение  $E$  лесных экосистем южной тайги к концу 21 века не превышающее 10% по сравнению с ожидаемым ростом количества осадков (около 20%) может привести для ельников, произрастающих на хорошо дренированных почвах, к некоторому увеличению влагосодержания почвы и поверхностного речного стока, а также несколько снизить риски возникновения сильных атмосферных засух в исследуемом регионе.

Постепенное истощение запасов минеральных веществ в почвенном покрове и снижение их содержания в листьях растений, вызванное увеличением потребления минеральных веществ для поддержания нормального течения биохимических реакций при прогнозируемом удвоении содержания  $\text{CO}_2$  в воздухе к концу 21 века, может привести к уменьшению скорости фотосинтеза, дыхания, устьичной проводимости листьев деревьев в исследуемых древостоях, и как следствие, к уменьшению  $NEE$  и  $E$  лесных экосистем. В частности, расчеты показали, что 20% снижение запасов доступного азота в листьях деревьев при условии сохранения видового состава древостоя (участие ели 100%) может вызвать уменьшение  $NEE$  на 14%,  $NPP$  – на 8%, а  $E$  – на 4%. Снижение содержания доступного азота в хвое ели до 50–60% практически полностью нивелирует эффект увеличения скорости фотосинтеза за счет прогнозируемого удвоения  $\text{CO}_2$  в воздухе и роста температуры на  $NEE$  к концу 21 века. Данные результаты хорошо согласуются с результатами экспериментов, полученными в рамках проекта Free-air  $\text{CO}_2$  enrichment, FACE (Norby et al., 2010).

Очевидно, что представленные модельные результаты демонстрируют лишь несколько частных сценариев возможного отклика составляющих  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  обмена лесных экосистем южной тайги на будущие изменения климатических условий. Решение поставленной задачи требует продолжение комплексных исследований процессов взаимодействия лесной растительности и климата, чтобы более точно спрогнозировать динамику лесных экосистем в будущем и оценить роль лесов в глобальной климатической системе.

*Исследование было выполнено при поддержке грантов Правительства РФ (11.G34.31.0079) и РФФИ (11-04-01622-а, 11-05-00854-а).*

#### Литература

Ольчев А.В., Курбатова Ю.А., Варлагин А.В., Выгодская Н.Н. Модельный подход для описания переноса  $\text{CO}_2$  между лесными экосистемами и атмосферой // Лесоведение, 2008. – № 3. – С. 3–13.

Farquhar G.D., von Caemmere S., Berry J.A. A biochemical model of photosynthetic  $\text{CO}_2$  assimilation in leaves of  $\text{C}_3$  species // Planta, 1980. – V. 149. – P. 78–90.

IPCC. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the IPCC. - Cambridge: Cambridge University Press, 2007. – 960 p.

Norby R.J., Warren J.M., Iversen C.M., Medlyn B.E., McMurtrie R.E.  $\text{CO}_2$  enhancement of forest productivity constrained by limited nitrogen availability // Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010. – V.107. – P. 19368–19373.

Oltchev A., Cermak J., Nadezhdina N., Tatarinov F., Tishenko A., Ibrom A., Gravenhorst G. Transpiration of a mixed forest stand: field measurements and simulation using SVAT models // Boreal Environmental Research, 2002. – V.7(4). – P.389–397.

Olchev A., Ibrom A., Ross T., Falk U., Rakkibu G., Radler K., Grote S., Kreilein H., Gravenhorst G. A modelling approach for simulation of water and carbon dioxide exchange

between multi-species tropical rain forest and the atmosphere // Ecological Modelling, 2008. – V. 212. – P. 122–130.

Olchev A., Novenko E., Desherevskaya O., Krasnorutskaya K., Kurbatova J. Effects of climatic changes on carbon dioxide and water vapor fluxes in boreal forest ecosystems of European part of Russia // Environ. Res. Lett., 2009. – V.4. –P. 045007.

## **АККУМУЛЯЦИЯ ФЕРРИТИНА И ФИТОСИДЕРИНА В КЛЕТКАХ ЛИСТА *MESEMBRYANTHEMUM CRYSTALLINUM* ПРИ ВЫСОКОМ СОДЕРЖАНИИ ЖЕЛЕЗА И ЗАСОЛЕНИИ**

Н.В. Парамонова

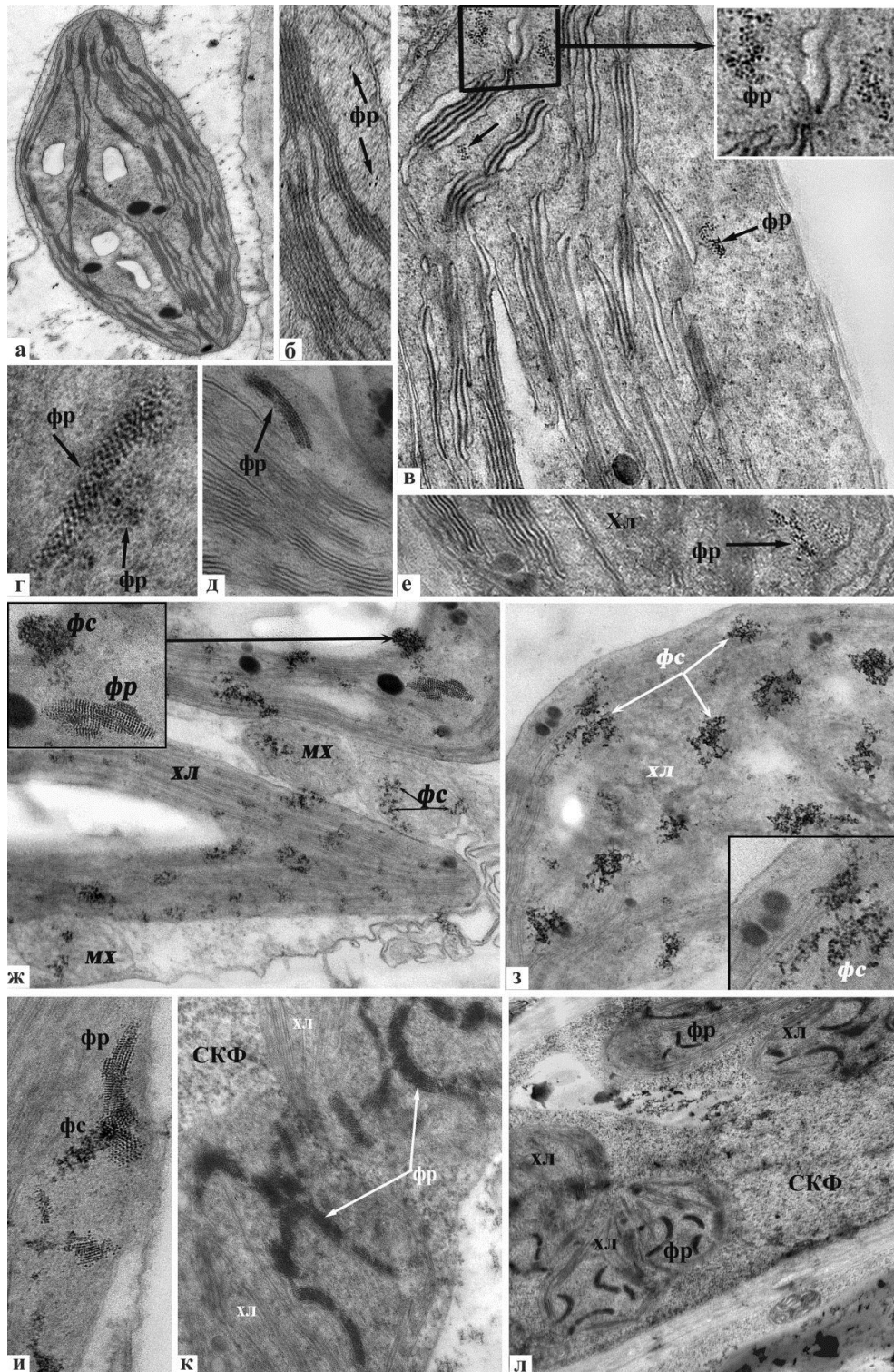
Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, Москва, paranva@mail.ru

Фитосидерин продукт распада Fe-запасяющего белка ферритина, который назван по аналогии с животным гемосидерином. Структура белка ферритина уникальна по сравнению с другими белками. Молекула ферритина состоит из центрального ядра (5–8 нм), в котором располагается гидроокисид  $Fe^{+3}$ , и окружающей его оболочки, (2–3 нм) состоящей из 20–24 идентичных глобулярных субъединиц. Белковая оболочка электроннопрозрачна и не видна в электронном микроскопе при обычном окрашивании срезов. Молекулы ферритина идентифицируются в электронном микроскопе в виде электронно-плотных частиц, благодаря находящемуся в них Fe. В литературе мало данных, о том, каким образом происходит разрушение ферритина в растении. Из экспериментов *in vitro* известно лишь, что исчезновение ферритина сопровождается появлением ферритиновых фрагментов с более низкой молекулярной массой (26.5-kDa) чем у основных 28 kDa субъединиц [Laulhere et.al., 1989]. Связывание железа ферритином требует изменения степени окисления металла от +2 до +3, а его высвобождение из этих молекул сопровождается обратным процессом восстановления. Этот  $Fe^{+2}/Fe^{+3}$  цикл, около молекул ферритина и в присутствии  $O_2$ , производит свободные радикалы Fenton реакцией, инициирующей деградацию субъединиц ферритина. Каким образом процесс превращения ферритина в фитосидерин осуществляется в клетках растения показано нами при электронно-микроскопическом исследовании ферритина в листьях хрустальной травки, подвергнутых действию экзогенного путресцина в условиях засоления [Парамонова и др. 2007]. В хлоропластах паренхимы сосудов в структуре ферритина обнаружены особенности, позволяющие говорить о его частичной деградации и превращении в фитосидерин. Это нарушение расстояния между ядрами и их выраженная способность к агрегации с образованием более крупных структур. Слипание Fe-содержащих ядер, по-видимому, указывало на разрушение белковой оболочки ферритина, т.е. на частичную деградацию последнего.

Представляло интерес выяснить, будут ли наблюдаться изменения в структуре и количестве ферритина у растений, выросших при высокой и низкой концентрации Fe, и каким образом засоление влияет на эти процессы. Для исследования растения хрустальной травки, в 6-ти недельном возрасте разделили на 2 группы. Одна группа продолжала расти еще 3 недели на среде, содержащей  $6 \mu M Fe^{+3}$  (контроль), другой группе концентрацию железа в питательной среде повысили до ( $100 \mu M Fe^{3+}$ ) на следующие 3 недели – вариант 2. Далее половине растений растущих на среде с ( $6 \mu M Fe^{+3}$ ) и со ( $100 \mu M Fe^{+3}$ ) в течение 3-х дней вносили по  $100 mM NaCl$ . Эти растения – 3-ий и 4-ый варианты соответственно. В этой среде растения росли еще 5 дней до фиксации.

Как показали электронно-микроскопические исследования ферритина в хлоропластах мезофилла в контроле ( $6 \mu M Fe$ ) изредка наблюдались одиночно расположен-

ные гранулы ферритина (вставка из *a*, *рис. б*). В варианте (6 мкМ Fe + NaCl) в хлоропластах мезофилла ферритин располагался группами от 15 до 40 гранул разного размера (*рис. в*), либо в виде кристаллов и встречался значительно чаще, чем в варианте (6 мкМ Fe). В варианте (6 мкМ Fe + NaCl) мелкие гранулы ферритина отмечались и в хлоропластах сопровождающих клеток флоэмы (СКФ) (*рис. з*). Размеры гранул ферритина часто неоднородны, что зависит от количества атомов Fe, запасенного в ядре.



Подписи к рисункам в таблице: *а, б* – контроль (6 мкМ Fe); *в, е* – (6 мкМ Fe + NaCl); *з, и, к* – (100 мкМ Fe); *д, ж, з, л* – (100 мкМ Fe + NaCl); фр – ферритин, фс – фитосидерин, хл – хлоропласт, мх – митохондрия, СКФ – сопровождающие клетки флоэмы.

При увеличении Fe до 100 мкМ в хлоропластах мезофилла ферритин отмечается и в виде кристаллов (рис. з), и виде очень мелких гранул. В больших количествах ферритин накапливался в хлоропластах СКФ (рис. к). В СКФ отмечались также группы более контрастных гранул, сходные по плотности и размерам с фитосидерином, которые тесно контактировали с ферритином (рис. и).

В варианте (100 мкМ Fe + NaCl) в матриксе хлоропластов мезофилла довольно часто присутствовал ферритин (рис. д) в виде слегка изогнутых параллельных рядов. Наряду с ферритином в этом варианте в матриксе хлоропластов нередко отмечались различного размера и формы рыхлые электронно-плотные включения, которые на неокрашенных срезах такие же контрастные (рис. з), как и Fe-содержащая ядерная часть молекулы ферритина. При большом увеличении видно (вставка из рис. з), что помимо фибриллярных структур в них располагались глобулярные включения размером меньше, либо больше Fe-содержащих ядер ферритина. Так как такие включения очень часто были тесно связаны с ферритином (рис. ж, и), предполагается, что это продукты разрушения ферритина – фитосидерин. Такого же рода материал наблюдался в цитоплазме, митохондриях и в вакуоле (рис. ж). В СКФ, ферритин занимал большую часть объема матрикса хлоропластов (рис. л). В СКФ на (рис. л) при небольшом увеличении видно несколько хлоропластов, все из них содержат большие объемы ферритина.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что как при небольшой, так и при высокой концентрации Fe в условиях засоления отмечалось значительно больше ферритина, что косвенно указывало на более высокое поглощение Fe в этих вариантах по сравнению с вариантами без NaCl. На это также указывает и появление во многих органеллах фитосидерина вследствие более значительного образования и разрушения ферритина в этих условиях. Таким образом, если уровень ферритина имеет прямую корреляцию с общим количеством поступившего железа, то уровень фитосидерина зависит от количества образовавшегося ферритина. Гипераккумуляция Fe в клетке ведет к накоплению большого количества растворимого ферритина, в котором сосредоточено метаболически активное Fe, что, по-видимому, становится опасным для клетки, и поэтому включаются механизмы вывода его из активного метаболизма и образования нерастворимого фитосидерина. У солеустойчивых растений, к которым относится хрустальная травка, NaCl стимулирует процесс поглощения Fe, аккумуляцию ферритина и фитосидерина. Разрушение ферритина и появление нерастворимого фитосидерина это естественный способ детоксикации избыточного Fe и предотвращения образования гидроксильных радикалов. Предполагается, что превращение ферритина в нерастворимый и гидрофобный Fe-белковый комплекс – фитосидерин при высокой концентрации Fe, может быть эффективным способом выведения активного Fe в вакуоль и снижения, тем самым, интенсивности окислительного стресса.

#### Литература

Парамонова Н.В., Шевякова Н.И., Кузнецов Л.В. Ультраструктурные особенности ферритина в листьях *Mesembryanthemum crystallinum* при стрессе // Физиология растений, 2007. – Т. 54. – С. 275–289.

Laulhere J.P., Laboure A-M., Briat J-F. Mechanism of the Transition from Plant Ferritin to Phytosiderin // J. Biol. Chemistry, 1989. – V. 264. – P. 3629–3635.

## ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ФЕРРИТИНА В СОПРОВОЖДАЮЩИХ КЛЕТКАХ ФЛОЭМЫ ЛИСТА *MESEMBRYANTHEMUM CRYSTALLINUM*

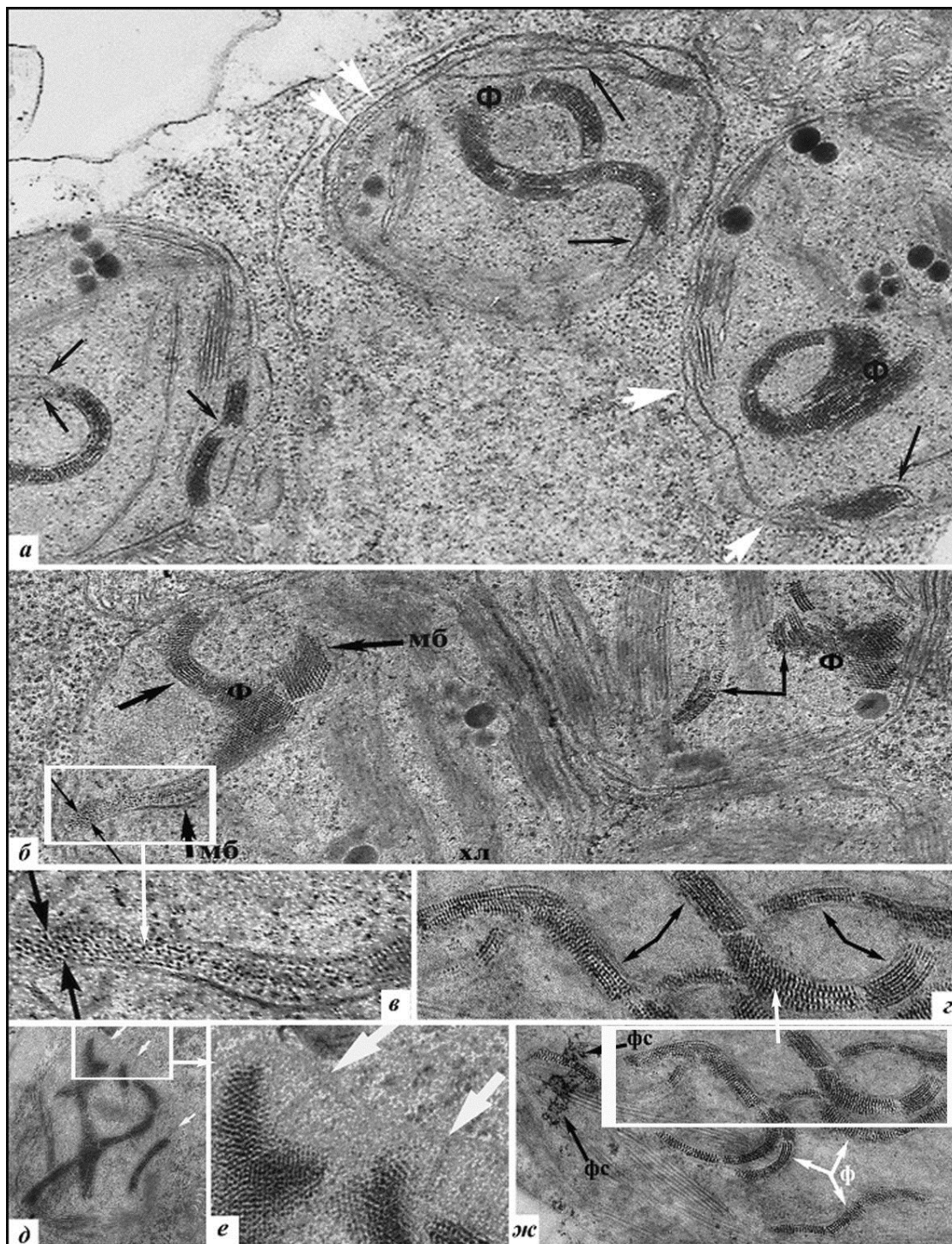
Н.В. Парамонова

Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, Москва, paranva@mail.ru

Листья основной орган для аккумуляции Fe в растении. Концентрацию Fe в клетке контролирует биосинтез ферритина. Нормальные зеленые листья содержат низкий уровень ферритина, который запасает 5–10% от общего Fe (приблизительно 350 Fe атомов /моль). Загруженные Fe листья содержат высокие уровни ферритина с хорошим наполнением Fe (1500–2500 Fe атомов/моль). Низкий уровень этого белка найден в хлоропластах, где происходит активный фотосинтез. Больше всего ферритина аккумулируется в не зеленых, слабо фотосинтезирующих пластидах. К последним относятся пластиды, расположенные в сопровождающих и других паренхимных клетках флоэмы, в ситовидных элементах флоэмы. Во флоэмной ткани ферритин наблюдался в паренхимных клетках флоэмы и в ситовидных трубках [Behnke, 1971, 1977; Парамонова и др., 2004, 2007].

В зависимости от характера расположения ферритиновых молекул в строме пластид различают 4 его типа [Seckback, 1982]. Первый тип (аморфное гранулирование) – очень плотно собранные частицы внутри кластера без структурной идентификации отдельных частиц. Второй тип – неплотно расположенные гранулы ферритина в небольших группах прямых или изогнутых рядов. Третий тип – неправильное паракристаллическое расположение прямых или дугообразных рядов. Четвертый тип – решетчатоподобная, высокоупорядоченная кристаллическая структура. В настоящей работе рассматриваются особенности строения ферритина в листьях хрустальной травки, которые еще не были описаны у других растительных объектов.

В сопровождающих клетках флоэмы листа хрустальной травки гранальная система в хлоропластах недостаточно развита и располагается чаще на периферии органеллы. Центральная часть занята запасными включениями – ферритином, пластоглобулами и в некоторых случаях крахмалом. В образовании крупных тубулярных структур, заполненных ферритином, принимают участие тонкие каналы, которые часто располагаются параллельно оболочке хлоропласта (рис. а). В некоторых случаях видна прямая их связь с гранами тилакоидов (рис. а). На конце каналы могут сильно расширяться, и заполняться ферритином (справа, рис. а). Иногда предварительное расширение канала, а затем последующее заполнение его ферритином происходит с двух концов, и ферритин в таких случаях находится в средней части расширенного канала (наверху, рис. а). Каналы, заполняющиеся ферритином, как правило, во многих участках контактируют с внутренней мембраной оболочки хлоропласта (светлые стрелки, рис. а). Если образующийся ферритин находится на некотором расстоянии от оболочки, связь с ней осуществляется через очень тонкие структуры, соединяющие ферритин с внутренней мембраной оболочки хлоропласта (светлые стрелки, рис. д, е). Ферритин, который формируется в тонком канальце, по мере роста увеличивается в несколько раз в объеме, и поэтому далее для удобства будет именоваться тубулярным. Следует отметить, что тубулярный ферритин отличается не только наличием мембраны на его поверхности, но и более плотной упаковкой в нем отдельных гранул ферритина. При этом местоположение параллельно расположенных рядов ферритина в тубуле, через определенные расстояния, чередуется с поперечного на продольное, с продольного на поперечное и т.д. (рис. б, г, ж). Концевые участки тубулярного ферритина, всегда связаны с внутренней мембраной оболочки хлоропласта (рис. а, б). В конце тубулярного ферритина сначала образуется апоферритин – белковая оболочка, лишенная Fe, затем в центральной



*a* - темные стрелки указывают на мембрану (мб) снаружи ферритина (Ф), светлые - на контакты мембраны Ф с оболочкой Хл; *б* - стрелками показан Ф, ограниченный мембраной, в Хл справа - свободно расположенный Ф. Тонкими стрелками показан зачаточный Ф. *в* - увеличенный фрагмент из *б*; *г* - увеличенный фрагмент из *ж*, стрелки указывают на остатки мембран около Ф; *д*, *е* - стрелками показаны каналцы, тянущиеся от Ф к оболочке Хл; *ж* - слева показан фитосидерин, указывающий на разрушение Ф, справа - Ф, теряющий мембрану на своей поверхности.

полости апоферритина начинает образовываться Fe-содержащее ядро ферритина. В конце тубулы ядра мелкие (рис. *в*), по мере удаления к центру хлоропласта ядра ферритина увеличивались в объеме. Вследствие относительно малого накопления железа в



зачаточных гранулах ферритина хорошо видны очертания, а точнее пространство, занимаемое белковой оболочкой (рис. в). Надо полагать, что структура зачаточных гранул ферритина хорошо видна вследствие того, что содержимое в тонких канальцах, а позднее в тубулах герметично и заполнено только ферритином на разных стадиях его развития. Когда зачаточные гранулы ферритина появляются в матриксе хлоропласта, их трудно идентифицировать из-за его зернистости и плотности. В зачаточных гранулах ферритина соотношение белковой оболочки к ядру больше чем в зрелых гранулах. Молекулярная масса белковой оболочки лишенной Fe, составляет 480–510 кДа. Общая молекулярная масса ферритина может достигать 900 кДа за счет включения кластера железа.

Длина, плотно упакованного, тубулярного ферритина, может быть в 2–3 раза больше диаметра хлоропласта, но так как не все его части находятся пространственно в одной плоскости, через которую проходит срез, монолитное его строение на электронно-микроскопических срезах выглядит в виде структур, расположенных по отдельности. Необходимо также сказать, что наряду с тубулярным ферритином в хлоропластах сопровождающих клеток флоэмы иногда наблюдался тип ферритина, встречающийся в мезофилле (рис. б). В последнем случае ряды, образованные ферритином, находятся непосредственно в матриксе хлоропласта и их расположение не так жестко фиксировано, как в тубулярном ферритине (рис. б). Иногда второй тип ферритина располагается одновременно с тубулярным в одном хлоропласте. При росте растений на средах с высокой концентрацией Fe мембрана, покрывающая ферритин в СКФ, может разрушаться (рис. г, ж), что ведет к разрушению и самого ферритина. Обнаружение фитосидерина около ферритина в таких хлоропластах СКФ (рис. ж) подтверждает это предположение.

Как нам представляется, формирование ферритина в канальцах хлоропластов предопределено его крупными размерами в хлоропластах СКФ. При образовании и накоплении большого количества ферритина в одном месте (хлоропласте) необходима защита от разрушения свободными радикалами и поэтому этот процесс происходит в компартменте, изолированном от других частей хлоропласта. На защитные свойства мембраны в тубулярном ферритине указывает тот факт, что при разрушении мембраны в условиях гипераккумуляции Fe, начинает разрушаться и ферритин.

#### Литература

Парамонова Н.В., Шевякова Н.И., Кузнецов Вл.В. Ультраструктура хлоропластов и их запасных включений в первичных листьях *Mesembryanthemum crystallinum* L. при воздействии путресцина и NaCl // Физиология растений, 2004. – Т. 51. – С. 99–109.

Парамонова Н.В., Шевякова Н.И., Кузнецов Вл.В. Ультраструктурные особенности ферритина в листьях *Mesembryanthemum crystallinum* L. при стрессе // Физиология растений, 2007. – Т. 54. – С. 275–289.

Behnke H.D. Phytoferritin in Sieve-Tube Plastids // Naturwissenschaften, 1971. – Bd. 58. – S. 151–152.

Behnke H.D. Regular occurring massive deposits of phytoferritin in the phloem of succulent Centrospermae. // Z. Pflanzen-physiol, 1977. – N 85. – S. 89–92.

Seckbach J. Ferriting Out the Secrets of Plant Ferritin – a Review // J. Plant Nutr., 1982. – V. 5. – P. 369–394.

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА ЗАЛЕЖНЫХ ЗЕМЕЛЬ СТЕПНОЙ ЗОНЫ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАЗАХСТАНА

В.Н. Пермитина

РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции» КН МОН РК, Алматы, v.permitina@mail.ru

Изучение процессов и закономерностей влияния антропогенных факторов на биогеоценозы, разработка научных основ проведения мониторинга и диагностики состояния нарушенных экосистем является одной из актуальных задач современности. Последствия антропогенного воздействия проявляются в природной среде в виде нарушений динамического равновесия биосферы, снижения видового и популяционного разнообразия биоты, угнетения способности растительности, как компонента экосистем, к самовосстановлению. При диагностике состояния компонентов природно-территориальных комплексов учитываются признаки, характеризующие их изменение с определением возможных нарушений их функционирования. Выявление направлений в трансформации внутренней организации и структуры экосистем в условиях антропогенного воздействия позволяет оценить степень отклонения основных параметров природной среды от нормы.

Одним из наиболее чувствительных компонентов экосистем по отношению к антропогенным воздействиям является растительность, изменения которой под воздействием антропогенного фактора – интегральный показатель трансформации природных комплексов [Викторов, Ремезова, 1988]. Оценка состояния нарушенных экосистем опирается на исследование уровня организации растительных сообществ, при котором используются методы, позволяющие оценить изменение их видового состава, структуры и происходящих процессов функционирования. Исследование нарушения растительности на фитоценотическом уровне ее организации в условиях антропогенного воздействия является актуальной задачей, поскольку полученные результаты служат основой для проведения комплексной диагностики состояния экосистем и прогноза изменения их состояния.

Центральный Казахстан является одним из наиболее репрезентативных районов для проведения подобных исследований, т.к. здесь располагаются значительные площади антропогенно нарушенных территорий, представленных пашнями и залежными землями. Состояние растительного покрова залежных земель и стадии его восстановления определяются природными условиями, а также интенсивным действием антропогенного фактора. Наличие выраженного антропогенного нарушения и стабилизации условий формирования растительности позволяет определить закономерности стадий восстановления и дать характеристику структурно-функциональным изменениям.

По природно-климатическим условиям это умеренно-сухая степь с распространением зональных темно-каштановых почв. Согласно природному районированию Казахстана территория тестируемого участка относится к степной зоне, подзоне умеренно сухой степи с распространением типчаково-ковыльной растительности, формирующейся на темно-каштановых почвах [Природные условия, 1969]. Основной фон растительного покрова равнины образован ксерофитными разнотравно-типчаково-ковыльковыми и типчаково-ковыльковыми сухими степями, формирующимися на темно-каштановых нормальных и темно-каштановых карбонатных почвах преимущественно суглинистых разновидностей.

Согласно схеме ботанико-географического районирования [Карамышева, Рачковская, 1973] территория обследования относится к Евроазиатской степной области, Причерноморско-Казахстанской подобласти, Заволжско-Казахстанской провинции, Во-

сточно-Казахстанской подпровинции. Основным типом рельефа является слабоволнистая равнина. Типчаково-ковыльные степи в естественном состоянии характеризуются преобладанием дерновинных злаков, наиболее распространенным среди которых является ковылок (*Stipa lessingiana*), значительное место занимают типчак (овсяница борозчатая – *Festuca valesiaca*) и тонконог гребневидный (*Koeleria cristata*). Реже встречается житняк (*Agropyron pectiniforme*), тырси́к (*Stipa sareptana*). Разнотравье представлено зопником колючим (*Phlomis pungens*), грудницей мохнатой (*Linosyris villosa*), солонечником узким (*Galatella angustissima*), полынью австрийской (*Artemisia austriaca*). Из эфемероидов встречаются тюльпан Шренка и тюльпан двуцветковый (*Tulipa schrenkii*, *T. biflora*).

Распашка целинных земель приводит к уничтожению естественной растительности в результате механической обработки почвы и представляет собой впоследствии искусственные фитоценозы из культурных растений или развитие вторичные сообщества различных стадий восстановления растительности на залежных землях. В степной зоне Центрального Казахстана значительные площади заняты разновозрастными залежами, которые длительное время были в сельскохозяйственном обороте. Стадии естественного восстановления залежей обусловлены различиями эдафических, геоморфологических и других факторов, и характеризуются длительным процессом. Состав и структура восстанавливаемой естественной растительности зависят от видового разнообразия окружающей территории, возраста и экологических условий, а также использованной агротехники и выращиваемыми ранее культурами [Бижанова и др., 2006].

Начальные стадии восстановления залежных земель сопровождаются развитием сорнотравных сообществ, состоящих из высокостебельных однолетних и многолетних растений со стержневой корневой системой, которые используют остаточные количества элементов питания. Первая, так называемая бурьянистая стадия, характеризуется доминированием сорных видов, отсутствием фитоценотической структуры и преобладанием группировок сорных видов: бодяков (*Cirsium arvense*, *C. incana*, *C. eskulentum*), полыней (*Artemisia scoparia*, *A. austriaca*), латука (*Lactuca seriola*, *L. sibirica*), мелколепестника (*Erigeron canadensis*). Залежные земли на ранних стадиях восстановления являются очагами распространения сорных видов растений и вредителей. Продолжительность стадии 3–5 лет после прекращения использования земель под пашню.

Вторая стадия – полынная, при которой однолетние растения постепенно выпадают и сменяются сорными видами многолетних полыней (*Artemisia vulgaris*, *A. dracunculus*, *A. lerchiana*, *A. austriaca*, *A. scoparia*, *A. monogina*). В формировании растительного покрова принимает участие разнотравье, эфемеры и эфемероиды. Появляются отдельные экземпляры рыхлодерновинных злаков (*Agropyron pectinatum*). Продолжительность стадии составляет 10–15 лет и зависит от степени и вида хозяйственного использования территории.

Третья заключительная стадия характеризуется восстановлением степных сообществ и присуща старовозрастным залежам. Отличительной особенностью служит доминирование и субдоминирование многолетних степных злаков (*Agropyron pectinatum*, *Festuca valesiaca*, *Stipa capillata*, *S. lessingiana*, *S. sareptana*).

Территория обследования залежных земель относится ко второй – полынной стадии восстановления, характеризуется преобладанием в растительном покрове сорных видов многолетних полыней (*Artemisia vulgaris*, *A. absintium*, *A. dracunculus*). Обильны многолетние и двулетние виды разнотравья (*Achillea millefolium*, *Tanacetum millefolium*, *Geranium sibiricum*, *Linosisiris tatarica*, *Acroptilon repens*, *Galatella angustissima*, *Medicago romanica*, *Berteroa incana*, *Thlaspi arvense*). Особенностью восстановления коренной растительности является присутствие дерновинного злака (*Agropyron pectinatum*). Вы-

раженные западины рельефа заняты вейниковыми (*Calamagrostis epigeios*) микрогруппировками, вокруг которых местами формируются микрогруппировки из полыни австрийской (*Artemisia austriaca*). Широкие понижения с дополнительным поверхностным увлажнением характеризуются формированием микрогруппировок из тростника южного (*Phragmites australis*). Закономерно повторяющиеся пятна микрогруппировок различного видового состава в структуре разнотравно-полынных фитоценозов залежей характеризуют их как мозаичные.

Анализ биоморфологической структуры растительности [Быков, 1965] залежных земель показал преобладание группы длительновегетирующих травянистых многолетников. Злаки представлены рыхлодерновинным пыреем гребенчатым (*Agropyron cristatum*), встречающимся в единичном обилии, и корневищными видами (*Phragmites australis*, *Calamagrostis epigeios*). В составе ценозов редко присутствуют двулетники (*Berteroa incana*) и однолетники (*Thlaspi arvense*).

По типам подземных органов доминируют две группы растений – стержнекорневые и корневищные. Группы растений с мочковатой и корнеотпрысковой корневой системой представлены единичными видами.

По режиму увлажнения господствующее положение занимают мезофиты (40%), далее по убыванию количества видов располагаются мезоксерофиты (26,6%), ксеромезофиты (20%), ксерофиты (6,7%), мезогрофиты (6,7%).

На территории обследования залежных земель располагаются искусственные лесонасаждения, представленные защитными полосами, ограничивающими участки сельскохозяйственных земель. Защитные лесополосы состоят их древесных пород: тополь белый (*Populus alba*), клен ясенелистный (*Acer negundo*), лох узкоплодный (*Elaeagnus oxycarpa*). Подрост древесных пород составляют единичные экземпляры лоха и клена. Под древесным пологом развитие травянистой растительности проявляется слабо, единично встречается ксеромезофильное разнотравье.

Функциональная структура фитоценозов залежных земель определяется бедностью видового состава и их количественным соотношением. Преобладание в составе фитоценозов высокостебельных многолетних видов полыней ограничивает скорость восстановления степных злаков. Исследованиями выявлено развитие многолетних видов разнотравья.

#### Литература

Бижанова Г.К., Огарь Н.П., Султанова Б.М., Хожаназаров В.М. Особенности восстановления степной растительности на старосеянных житняковых полях //Труды III Международной конференции, посвященной памяти выдающихся ботаников Казахстана. – Алматы, 2006. – С. 97–99.

Быков Б.А. Доминанты растительного покрова Советского Союза. – Алма-Ата: Наука, 1965. – Том III. – 461 с.

Викторов С.В., Ремезова Г.Л. Индикационная геоботаника. – М.: МГУ, 1988. – 168 с.

Карамышева З.В., Рачковская Е.И. Карта растительности степной части Центрально-Казахстанского мелкосопочника как основа для ботанико-географического районирования. // Геоботаническое картографирование. – Л., 1973. – С. 30–49.

Природные условия и естественные ресурсы СССР. Казахстан. – М.: Наука, 1969. – С. 482.

## ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ У РАСТЕНИЙ В ЗОНЕ ВОСТОЧНО-УРАЛЬСКОГО РАДИОАКТИВНОГО СЛЕДА

В.Н. Позолотина, Е.В. Антонова, Э.М. Каримуллина

Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, pozolotina@ipae.uran.ru

Одна из первых в мире крупных ядерных аварий произошла на ПО «Маяк» (Уральский регион) 29 сентября 1957 г. Территория площадью 23 тыс. км<sup>2</sup>, загрязненная в результате аварии [Заключение..., 1991], была названа Восточно-Уральским радиоактивным следом (ВУРС). Эта зона является уникальным природным полигоном для изучения растений и животных, длительное время существующих в условиях радионуклидного загрязнения. Исследования ВУРСа заложили основы для понимания адаптивных процессов и генетических последствий в природных экосистемах в зонах ядерных аварий [Эколого-генетические..., 1993; Позолотина и др., 2008]. *Цель настоящей работы* – обобщение данных о состоянии растительности в головной части ВУРСа и анализ результатов исследований радиобиологических эффектов у модельных видов травянистых растений, произрастающих в градиенте загрязнения.

*Уровни загрязнения зоны ВУРСа и оценка дозовых нагрузок на растения.* В настоящее время фоновое содержание радионуклидов в пределах Уральского региона составляет 2.0 (1.8–2.5) кБк/м<sup>2</sup> по <sup>90</sup>Sr; 4.0 (3.5–6.5) кБк/м<sup>2</sup> по <sup>137</sup>Cs и 0.1 кБк/м<sup>2</sup> по <sup>239,240</sup>Pu. В почвах головной части ВУРСа с увеличением расстояния от ПО «Маяк» содержание <sup>90</sup>Sr снижается от 95 до 0.4 МБк/м<sup>2</sup>, а <sup>137</sup>Cs – от 0.90 до 0.02 МБк/м<sup>2</sup>. Плотность загрязнения почв <sup>239,240</sup>Pu в крайних точках опробования различается в 100 раз, изменяясь от 70 до 0.7 кБк/м<sup>2</sup>. Для всех радионуклидов отмеченные зависимости описываются экспоненциальными уравнениями [Михайловская и др., 2011; Molchanova et al., 2009]. Прослеживается резкое падение градиента загрязнения от центра следа к перифериям, так что в почвах приграничных участков содержание <sup>90</sup>Sr и <sup>137</sup>Cs составляет 50–100 и 17–20 кБк/м<sup>2</sup> соответственно.

На основании данных о концентрациях радионуклидов в почвах и вегетативной массе рассчитаны мощности поглощенной дозы для растений из головной части следа. Как правило, поглощенные дозы на периферийных (буферных) участках в 2–10 раз выше, чем на фоновых площадках, а на участках центральной оси (импактных) – на 2–3 порядка. За весь период онтогенеза (до 20 лет) поглощенная доза для травянистых растений составит 6–17 Гр, что не выходит за пределы диапазона малых доз радиации.

*Разнообразие растительных сообществ в головной части ВУРСа.* Наиболее существенные изменения в составе и структуре фитоценозов проявились в первые годы после аварии [Эколого-генетические..., 1993]. В настоящее время среди лесных сообществ, так же как и на момент аварии, преобладают березовые леса, встречаются осиновые колки и посадки сосны. Луговая растительность представлена квазинатуральными луговыми сообществами (старые покосные луга с доминированием злаков и разнотравья) и вторичными лугами на разных стадиях восстановительных сукцессий. На местах отселенных деревень преобладает нитрофильный бурьян. Видовое богатство всех растительных сообществ на центральной трансекте (γ-разнообразии) увеличивается по мере удаления от эпицентра аварии, за исключением участка 27 км (заболоченная пойма р. Караболки), для которого характерно пониженное видовое разнообразие и отсутствие рудеральных видов (таблица).

Таким образом, можно заключить, что на формирование растительных сообществ в зоне ВУРСа оказывает влияние не только радиоактивное загрязнение почв, но и степень антропогенного воздействия в доаварийный период, рекультивационные мероприятия, тип экосистем. Рядом авторов [Лагунов, Смагин, 2007] территория головной ча-

сти следа оценивается как ядро экологического каркаса для сохранения биоразнообразия в регионе. Однако качество генофонда флоры в этом случае снижено под действием хронического облучения.

*Радиобиологические эффекты у растений в зоне ВУРСа.* Многолетние исследования в зоне ВУРСа показали, что спустя 55 лет после аварии жизнеспособность (выживаемость проростков, скорость роста корней и листьев) семенного потомства 12 видов растений либо не отличается от фоновых выборок, либо ниже или выше фоновых показателей. Такое разнообразие эффектов связано не только с радиационным воздействием, но и с изменчивостью погодных условий, точнее, оно определяется взаимодействием радиации с другими экологическими факторами.

Таблица

**Запас радионуклидов в 0–40 см слое почвы и  $\gamma$ -разнообразие фитоценозов на центральной трансекте головной части ВУРСа**

Расстояние от эпицентра, км	$^{90}\text{Sr}$ , кБк/м <sup>2</sup>	$^{137}\text{Cs}$ , кБк/м <sup>2</sup>	$\gamma$ -разнообразие
6–7	29300	858	47
10–14	9700	315	132
15–18	4000	152	154
27	16	25	94

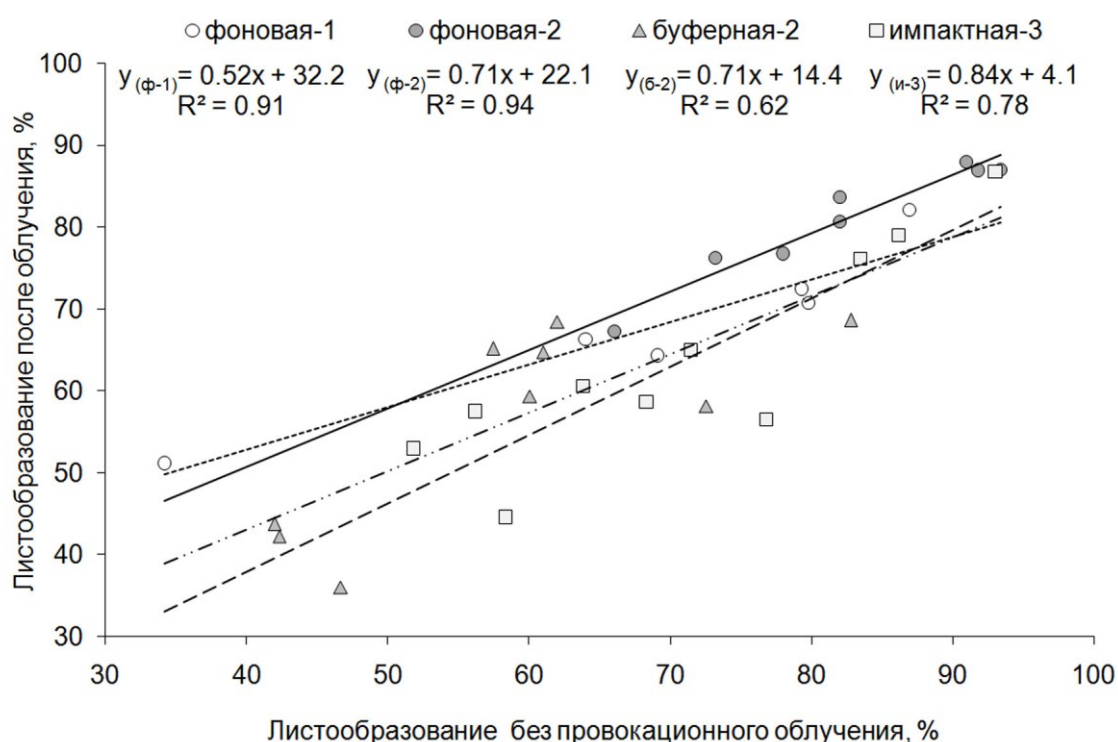
Оценка уровня мутабельности у растений показала, что в большинстве популяций изученных видов из зоны ВУРСа мутационный процесс идет более интенсивно, чем на фоновых территориях. Так, в импактных выборках костреца безостого в разные годы доля проростков с хлорофильными аномалиями значимо превышала контрольные значения ( $\chi^2_{(5)}=62.3-116.1$ ,  $p \ll 0.01$ ). У бодяка щетинистого на наиболее загрязненном участке (район лежневой дороги) до 80% растений в ценопопуляции несут мутацию типа *albina*. У дремы белой в зоне ВУРСа обнаружены растения с обоепольными цветками, в норме же четко выражен половой диморфизм. F<sub>1</sub>-поколения бодяка и дремы, выращенные в эксперименте, также несут нарушения, обнаруженные в природных популяциях, следовательно, признаки наследуются. Часть повреждений существует в семенах большинства видов из зоны ВУРСа в скрытом виде и проявляется фенотипически только после провокационного облучения. При этом дополнительное облучение практически не влияет на частоту встречаемости морфозов в фоновых выборках. Определенной зависимости между мутабельностью и интенсивностью облучения родительских растений установить невозможно, так как эффект проявляется нелинейно.

*Радиочувствительность семенного потомства растений.* Адаптационный потенциал ценопопуляций оценивали по устойчивости семенного потомства к дополнительному облучению. Стабильного эффекта радиоадаптации у разных видов растений из зоны ВУРСа не выявлено, т.е. почти у всех видов наблюдали разнообразные реакции: повышенная радиоустойчивость или радиочувствительность импактных выборок, а также отсутствие различий между фоновыми и импактными ценопопуляциями. Например, выборки дремы белой не различались между собой по средним значениям выживаемости проростков ( $H_{(3,104)}=2.7-2.94$ ;  $p=0.44$ ). Анализ индивидуальной изменчивости радиоустойчивости выявил во всех группах значимую зависимость между исходной выживаемостью проростков и их реакцией на облучение (для импактных выборок  $R^2=0.95-0.96$ ;  $p=0.00003-0.0007$ ; для буферной –  $R^2=0.80$ ;  $p=0.0052$ ; для фоновой –  $R^2=0.90$ ;  $p=0.0009$ ). Эта закономерность не зависит от уровня радионуклидного загрязнения местообитаний родительских растений. Аналогичные результаты были получены для одуванчика, звездчатки, бодяка и костреца. Так, у костреца изначально высокая жизнеспособность семенного потомства, оцененная по скорости роста листьев у про-

ростков, обеспечивает их высокую радиустойчивость (рисунок).

Таким образом, установлено, что генетические эффекты сохраняются в отдаленные сроки после ядерной аварии. Возрастает значимость экологических подходов в изучении последствий облучения, учитывающих эффекты взаимодействия радиации с другими факторами среды, оценивающих внутри- и межпопуляционную изменчивость признаков, а также видовые особенности их проявления.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы междисциплинарных исследований между Институтами УрО РАН (проект №12-М-24-2016), Программы ОФИ между Институтами УрО РАН и госкорпорациями РФ (проект №12-4-002-ЯЦ), гранта РФФИ (проект №11-04-01260) и Программы развития ВНИИ (НШ-5325.2012.4).



**Рис. Внутрипопуляционная изменчивость радиочувствительности семенного потомства *Bromopsis inermis* из фоновых и импактных ценопопуляций.**

#### Литература

Заключение комиссии по оценке экологической ситуации в регионе производственного объединения "МАЯК", организованной по распоряжению Президиума Академии наук. N 1140-501 // Радиобиология, 1991. – Т. 31, вып. 3. – С. 436–452.

Лагунов А.В., Смагин А.И. Восточно-Уральский государственный заповедник в системе особо охраняемых природных территорий Челябинской области // Вопросы радиационной безопасности. Специальный выпуск, 2007. – С. 45–67.

Михайловская Л.Н., Молчанова И.В., Караваева Е.Н. и др. Радиоэкологическое исследование почвенного покрова Восточно-Уральского государственного заповедника и сопредельных территорий // Радиационная биология. Радиоэкология, 2011. – Т. 51. – №4. – С. 476–482.

Позолотина В.Н., Молчанова И.В., Караваева Е.Н. и др. Современное состояние наземных экосистем зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа. Екатеринбург: Голицкий, 2008. – 204 с.

Экологические последствия радиоактивного загрязнения на Южном Урале. М.:

Наука, 1993. – 336 с.

Molchanova I., Pozolotina V., Karavaeva E. et al. Radioactive inventories within the East-Ural radioactive state reserve on the Southern Urals // Radioprotection, 2009. – V. 44. – No 5. – P. 747–757.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ФИТОПЛАНКТОНА ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПРЭСНОГО ВОДОЕМА СОЛЯМИ МЕТАЛЛОВ

Р.Е. Романов<sup>1,3</sup>, Б.С. Смоляков<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, romanov\_r\_e@ngs.ru

<sup>2</sup>Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН, Новосибирск, ecol@niic.nsc.ru

<sup>3</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск

Метод мезомоделирования успешно используется для изучения поведения тяжелых металлов на ранних стадиях комплексного загрязнения пресного водоема [Смоляков, Рыжих, 2009]. В частности, показано, что сообщество фитопланктона способно быть основным каналом выведения металлов в донные осадки [Смоляков и др., 2009; Smolyakov et al., 2010].

Цель данного сообщения – оценка трансформации состава и обилия фитопланктона пресного равнинного водоема умеренных широт при его комплексном загрязнении солями металлов. Моделирование ситуации комплексного загрязнения водоема солями Zn, Cu, Pb и Cd с целью оценки интенсивности различных путей выведения металлов в донные осадки и возможностей управления этими процессами определили схемы натуральных экспериментов. Они были выполнены в акватории Новосибирского водохранилища на протяжении летних сезонов 2008 и 2009 г. В каждой серии устанавливали мезокосмы из полиэтиленовой пленки, отсекая слой воды высотой 3 м и объемом 2 м<sup>3</sup> от поверхности до дна и фиксируя конструкцию вдавливанием в дно металлического кольца в нижней части мезокосма. Один из них был фоновым (М1), в другие спустя пять суток, условно принятых как срок для стабилизации условий среды, добавляли соли металлов. В 2008 г. вводили растворы Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> и Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> в расчете на начальную концентрацию Cu, Pb и Cd в воде каждого мезокосма, равную 500, 250 и 50 мкг/л соответственно. В 2009 вводили растворы Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> и Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> в расчете на начальную концентрацию Cu, Zn и Cd в воде, равную 500, 250 и 50 мкг/л соответственно. Двадцать дней спустя после начала эксперимента снова добавили растворы Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, чтобы вернуть концентрации металлов к исходным величинам. Это позволило проверить устойчивость сформировавшегося сообщества к повторному воздействию и оценить интенсивность выведения им металлов в донные осадки. С целью варьирования эффективности выведения металлов из водной толщи фитопланктоном создавали условия для его ограниченного, «нормального» и стимулированного воспроизводства. Первое – за счет затемнения объема воды в мезокосме из темной пленки (М3), второе – без такого ограничения в мезокосме из прозрачной пленки (М2), третье – добавкой комплекса питательных веществ (удобрение «Кемира», 60 мг/л) в мезокосм из прозрачной пленки (М2а).

Из поверхностного слоя, глубины 1,5 и 2,5 м отбирали по 50 или 100 мл воды, смешанную пробу объемом 150 или 300 мл фильтровали через мембранные фильтры МФАС-ОС-2 (Владипор, Россия) с размером пор 0.45 мкм. Часть пробы использовали для анализа остаточной концентрации металлов, другую фиксировали формалином, доводя концентрацию до ~2.5%. Обилие фитопланктона определяли счетно-объемным



методом. Параллельно учитывали клетки и индивиды – одиночные клетки, временные агрегаты, колонии, ценобии, нити, трихомы и т.п. без учета числа составляющих их клеток, то есть одновременно получали численности клеток и индивидов. К доминантам и субдоминантам относили виды, обилие которых было не менее 10 и 5 % соответственно.

Остаточная концентрация металлов в воде постепенно снижалась по ходу экспериментов, наиболее эффективно в М2а, в меньшей степени – в затемненном мезокосме М3 [Смоляков и др., 2009; Smolyakov et al., 2010]. Эффективность удаления металлов коррелировала с динамикой численности фитопланктона.

Общее обилие фитопланктона в начале эксперимента изменялось в пределах 3,7–11,4 млн. клеток  $\text{дм}^{-3}$ , 2,1–9,7 млн. индивидов  $\text{дм}^{-3}$ , 1,1–8,0  $\text{г м}^{-3}$  в конце августа 2008 г. и 0,7–4,1, 0,5–3,2, 0,19–0,86 в середине июля 2009 г. соответственно. Примечательна выраженная пространственная неоднородность обилия и, в меньшей степени, состава фитопланктона в прибрежной части залива водохранилища, где были установлены мезокосмы. В фитопланктоне доминировали неколониальные центрические диатомовые (*Stephanodiscus* spp. и *Cyclotella* spp.) и *Peridiniopsis kevei* Grigorszky et Vasas (*P. rhomboides* Krachmalny). По численности клеток в 2008 г. субдоминировал *Raphidocelis* sp., в 2009 г. – *Monoraphidium contortum* (Thur.) Kom.-Legn. при различном наборе менее обильных субдоминантов.

В 2008 г. на шестнадцатые сутки эксперимента обилие фитопланктона существенно возросло в М2 и М2а за счет массового развития *Acutodesmus dimorphus* (Meu-en) Tzar. (до 13,8 млн. кл.  $\text{дм}^{-3}$ , 13,1 млн. инд.  $\text{дм}^{-3}$ , 1,4  $\text{г м}^{-3}$  и 183, 46,1, 11,5 соответственно). В М1 численность немного снизилась за счет снижения численности неколониальных центрических диатомовых, биомасса, напротив, увеличилась благодаря увеличению численности крупноклеточного вида *Peridiniopsis kevei* (с 0,8 млн. кл.  $\text{дм}^{-3}$  и 4,9  $\text{г м}^{-3}$  до 1,2 и 8,7 соответственно). В М3 обилие фитопланктона, вероятно, уменьшалось благодаря снижению численности неколониальных центрических диатомовых; при этом возрастало обилие *P. kevei* и *Acutodesmus dimorphus*, также добавился новый доминант *Cyanogranis ferruginea* (Wawrik) Hind.

В 2009 г. состав фитопланктона после первого внесения тяжелых металлов в М2а существенно ни изменялся; постепенно возрастала численность неидентифицируемых коккоидных зеленых водорослей и *Peridiniopsis kevei*. Обилие последнего вида существенно не менялось после второго внесения солей металлов на двадцатые сутки эксперимента в отличие от неидентифицируемых коккоидных зеленых водорослей, численность которых резко увеличилась. Наиболее вероятно, что это стадия жизненного цикла *Acutodesmus dimorphus* в неблагоприятных условиях. Этот вид стал наиболее обильным или абсолютно доминировал на поздних стадиях наблюдаемой сукцессии после второго внесения солей металлов с максимальными величинами обилия 69,4 млн. кл.  $\text{дм}^{-3}$  и 3,7  $\text{г м}^{-3}$  на 53 сутки эксперимента. Интенсивность вывода металлов в донные осадки при повторном их внесении была существенно выше, чем в начале эксперимента, при этом обилие фитопланктона не снижалось. Таким образом, сформировавшееся сообщество было более устойчиво к повторным негативным воздействиям.

*A. dimorphus* и *Peridiniopsis kevei* становятся ведущими в фитопланктоне, формируясь в результате экспериментального воздействия солей металлов. При массовом развитии *Acutodesmus dimorphus* существовал преимущественно в виде одиночных веретеновидных клеток, которые могли соединяться полюсами, формируя короткие цепочки, в ряде случаев разветвленные. В некоторых случаях была существенна роль, по-видимому, одиночных округлившись клеток *A. dimorphus*. Относительное обилие его ценобиев возрастало на поздних стадиях наблюдаемой сукцессии, возможно при переходе от экспоненциальной к стационарной фазе его роста. Представители этого рода

способны продуцировать одноклеточные формы, как в природных условиях, так и в культуре, причем при культивировании *A. dimorphus* в интенсивных условиях способность штамма к образованию ценобиев ослабевает [Царенко, Ступина, 1996]. Доминирование видов рода *Acutodesmus* (как *Scenedesmus* s.l.) характерно для неглубоких хорошо перемешиваемых водоемов с высоким содержанием биогенных элементов [Padisák et al., 2009]. *Peridiniopsis kevei* является тепловодным видом, способным развиваться в планктоне озер и рек различной трофности [Grigorszky et al., 2001]. Можно предположить, что *P. kevei* способен успешно развиваться в темноте, не используя фотосинтетический аппарат, так как многие динофлагелляты способны к фаготрофии [The biology of dinoflagellates, 1987].

Таким образом, новое сообщество сформировалось в мезокосмах под воздействием тяжелых металлов из исходного набора видов, по-видимому, так же как и при экспериментальной оценке эффекта загрязнения пресного водоема кислыми рудными дренажными водами на основе идентичного подхода [Bortnikova et al., 2001]. Такие сообщества не были обнаружены ранее в Новосибирском водохранилище [Куксн, Чайковская, 1985; Романов, неопублик. данные].

Следовательно, можно предполагать, что при неблагоприятном воздействии на экосистему пресноводного водоема может происходить разрушение существующего сообщества фитопланктона и формирование нового сообщества из комплекса присутствующих в водоеме видов. Более того, это сообщество будет устойчиво к повторным воздействиям тех же самых неблагоприятных факторов, которые способствовали его формированию.

*Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ, проект 07-05-00033.*

#### Литература

Куксн М.С., Чайковская Т.С. Межгодовые колебания видового состава и биомассы фитопланктона Новосибирского водохранилища // Комплексные исследования Новосибирского водохранилища. Тр. Зап.-Сиб. регионального научн.-иссл. ин-та Госкомгидромета. Вып. 70. – М.: Гидрометеиздат, 1985. – С. 76–84.

Смоляков Б.С., Рыжих А.П. Развитие методологии мезомоделирования экологических последствий загрязнения пресных водоемов металлами // Электронный журнал "Исследовано в России", 2009. – 27. – С. 270–277. <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2009/027.pdf>

Смоляков Б.С., Рыжих А.П., Романов Р.Е. Поведение Cu, Pb, Cd в пресном водоеме: влияние минеральных взвешенных частиц и планктонных организмов // Химия в интересах устойчивого развития, 2010. – №5. – С. 603–614.

Царенко П.М., Ступина В.В. Одноклеточность видов рода *Scenedesmus* Meyen (Chlorococcales, Chlorophyta) // Альгология, 1996. – Т. 6, №4. – С. 434–446.

Bortnikova S.B., Smolyakov B.S., Sidenko N.V., Kolonin G.R., Bessonova E.P., Androsova N.V. Geochemical consequences of acid mine drainage in a natural reservoir: inorganic precipitation and effects on plankton activity // Journal of Geochemical Exploration, 2001. – Vol. 74. – P. 127–139.

Grigorszky I., Vasas F., Borisc G., Klee R., Schmidt A., Borbély Gy. *Peridiniopsis kevei* sp. nov., a new freshwater dinoflagellate species (Peridiniaceae, Dinophyta) from Hungary // Acta Botanica Hungarica, 2001. – Vol. 43(1–2). – P. 163–174.

Padisák J., Crossetti L.O., Naselli-Flores L. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates // Hydrobiologia, 2009. – Vol. 621. – P. 1–19.

Smolyakov B.S., Ryzhikh A.P., Romanov R.E. The fate of Cu, Zn, and Cd in the initial stage of water system contamination: The effect of phytoplankton activity // Journal of Haz-

ardous Materials, 2010. – Vol. 184. – P. 819–825.

The biology of dinoflagellates / Taylor F.J.R. (ed.): Botanical Monographs. Vol. 21. – Oxford: Blackwell scientific publications, 1987. – 785 p.

## СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ПАСТБИЩ В УСЛОВИЯХ СЕВЕРНОГО ПРИБАЙКАЛЯ

Ю.А. Рупышев, А.В. Суткин, Т.Г. Бойков, Н.Е. Швецова

Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, rupyshv@mail.ru  
Биоэкологический стационар «Баргузинский», п. Ина

Наиболее доступные и интенсивно используемые экосистемы в условиях Северного Прибайкалья являются луга и степи. Ведущим фактором, влияющим на травостой, является выпас. Бессистемная пастьба привела к уничтожению естественного травостоя на больших площадях. Для их рационального использования очень важно организовать оптимальный пастбищный режим. Решение этой проблемы невозможно без знания особенностей функционирования этих сообществ.

Целью работы явилось исследование структуры и продуктивности растительных сообществ пастбищ и разработка рекомендации по их оптимальному использованию.

Исследования проводились на пастбищах расположенных в Баргузинской котловине и на западном макросклоне передовой гряды хребта Икатский. Общая площадь пастбищ составляет 8873 га. Регион характеризуется умеренно семиаридным климатом, со среднегодовой температурой около  $-2,6^{\circ}\text{C}$  и годовым количеством осадков около 350 мм. Осадки имели широкие межгодовые колебания в диапазоне от 180 до 550 мм, 60–80% из которых приходится на летний сезон с июня по август [Климатические особенности..., 1979].

Доминирующими типами растительности являются степи, которые отнесены к классу *Cleistogenetea squarrosae* Mirkin et al. 1986 [Кривобоков, Аненхонов, 2010] и луга класса *Molinio-Arrhenatheretea* R.Тх. 1937 em. R.Тх. 1970.

Вследствие интенсивного выпаса на значительных площадях располагаются сообщества классов *Plantaginetea majoris* R.Тх. et Prsg. in R.Тх. 1950 и *Caricetea duriusculae* Mirkin et Kashapov 1987.

На пастбищах в основном выпасают крупный рогатый скот и лошадей.

Сухие дерновиннозлаковые степи распространены на подгорных шлейфах и склонах хр. Икатский, грядах мелкосопочников, высоких террасах котловины в пределах высот 525–615 м над ур. м.

В составе травостоя доминируют *Stipa krylovii* Roshev. Общее проективное покрытие этих фитоценозов колеблется от 40 до 70%. Травостой их не однородный, мозаичный. Сообщества характеризуются трех и двух ярусной структурой. Первый ярус (40–60 см) образует *Stipa krylovii*. Во втором ярусе (15–25 см) наиболее обильны *Artemisia frigida* Willd., *Chamaerhodos erecta* (L.) Bunge, *Stellaria dichotoma* L. Третий ярус (5–7 см) состоит из *Cleistogenes squarrosa* (Trin.) Keng, *Potentilla acaulis* L., *Thymus baicalensis* Serg.

Участки с растительностью, находящейся на разной степени деградации, были проанализированы с использованием статистического метода РСА, полученные координаты интерпретированы по регрессирующим осям влажности и плодородию.

Установлено, что в пределах автоморфных градации от 51 до 57 по увлажнению и от 12 до 14 по богатству и засолению расположились сухие степи [Цаценкин, 1974]. Эти участки образованы ковыльными (*Stipa krylovii*) и твердоватоосоковыми (*Carex*

*duriuscula*) сообществами.

Растительные участки были также кластеризованы на два типа сообществ в качестве меры дистанции использовано евклидово расстояние, связанное методом Уорда.

Первый тип объединяет сильно трансформированные степные сообщества с доминированием *Carex duriuscula*.

Второй тип включает климаксовые сухостепные ковыльные (*Stipa krylovii*) фитоценозы.

Для оценки проявления пастбищной дигрессии был избран коэффициент антропогенной трансформации, предложенный Е.П. Прокопьевым и др. [2006].

При этом антропогенная трансформация оценивалась показателем проективного покрытия видов слагающих синтаксон, а коэффициент был выражен отношением суммы проективных покрытий дигрессионных и синантропных видов к сумме проективных покрытий всех видов.

В результате расчета коэффициента выяснилось, что участки крыловоковыльных настоящих степей находятся на II-III стадиях антропогенной трансформации и экологически приурочены к конусам выноса подгорных шлейфов хр. Икатский.

Экологический анализ растительных сообществ исследованных участков по фактору увлажнения показал, что при увеличении пастбищной нагрузки происходит ухудшения состояния растительности, сопровождающийся упрощением структуры, уменьшением количества экоморф, и усилением процессов ксерофитизации.

При этом нужно отметить, что количество экоморф в аридных условиях вместе со степенью трансформации может изменяться в зависимости от количества осадков в пастбищный сезон. В наиболее аридных фазах июне и июле велико значение эуксерофитов и мезоксерофитов, которое в гумидной августовской фазе заметно уменьшается, появляются виды мезидной природы: эумезофиты и ксеромезофиты. Это согласуется с многолетними наблюдениями за распределением осадков в летнее время, в котором выделяются сухой и влажные периоды.

Дифференциация общего запаса фитомассы по биоморфам зависит от степени их антропогенной трансформации. В крайнем, дигрессионном варианте (Кат 72 %), общий запас фитомассы минимален ( $62 \text{ г/м}^2$ ), и распределен по двум биоморфам. В ковыльном сообществе (находящимся на II стадии антропогенной трансформации, Кат 22 %) общая продуктивность возрастает до  $471 \text{ г/м}^2$  (июль), и несколько снижается в августе.

Установление степени трансформации растительных сообществ, определение их параметров дает возможность разработать механизмы, направленные на восстановление и устойчивое функционирование экосистем. Одним из важных параметров является продуктивность пастбищ, которая дает возможность установить оптимальную плотность скота на единицу площади (емкость пастбища), позволяет с учетом дневной потребности сельскохозяйственных животных [Юнусбаеву, 2000] рассчитать предельно допустимые нагрузки на пастбища, и оптимизировать поголовья выпасаемых животных [Демин 1973; Харитонов, 1980; Бойков и др., 2002; Рациональное..., 1989].

Пастбищная емкость – максимальное количество скота, которое может обеспечить зеленым кормом единица площади пастбища без ущерба для растительного сообщества.

Ранее нами было установлено, что в среднем поедаемость травостоя на одну овцу составляет 3,6 кг за 7 ч пастбы [Бойков и др., 2002].

В раннелетний период при I стадии трансформации максимальное количество условных голов должно составлять не более 10 на га в кормовой день. При IV стадии трансформации не более 3 на 1 гектар в день.

В позднелетний период максимальное количество овец на га при минимальном

изменении травостоя не должно превышать 35 условных голов. В этот же период при крайних стадиях трансформации их количество должно быть ограничено 4–6 головами.

Таким образом, пастбищная емкость находится в прямой зависимости от степени антропогенной трансформации и сезонной изменчивости. Она уменьшается в крайних стадиях трансформации и аридных условиях раннелетнего периода, и увеличивается с уменьшением трансформации в гумидных условиях позднелетнего периода.

*Исследования проводились при поддержке NFNC 13-04-91181\_a Grasslands of arid and semi-arid areas of North-East Asia: the functioning with climate change and human impact of different scenarios. Проект СО РАН 16.14. «Разработка системы индикации процессов опустынивания для оценки современного состояния экосистем Сибири и Центральной Азии, создание на ее основе прогнозных моделей и системы мониторинга».*

#### Литература

Бойков Т.Г., Харитонов Ю.Д., Рупышев Ю.А. Степи Забайкалья: продуктивность, кормовая ценность, рациональное использование и охрана. – Улан-Удэ: БНЦ СО РАН, 2002. – 226 с.

Демин Ю.И. Таблицы расчета кормовых площадей. – М., 1973. – 175 с.

Климатические особенности зоны БАМ // Труды лимнологического института. – Новосибирск: Наука, 1979. – Т. 30. – 144 с.

Кривобоков Л.В., Аненхонов О.А. Тенденции изменения флористического состава степной растительности Северного Прибайкалья при потеплении климата // Растительность Азиатской России, 2010. – № 2(6). – С. 17–21.

Прокопьев Е.П., Зверев А.А., Мерзлякова Н.Е., Кудрявцева В.В., Менеева Т.А. Опыт оценки антропогенной трансформации растительности зеленой зоны в Томске // Флора и растительность Сибири и Дальнего Востока. Чтения памяти Л.М. Черепнина: Труды 4 Всероссийской конференции. – Красноярск: КГПУ, 2006. – С. 79–84.

Рациональное использование степных пастбищ Забайкалья (рекомендации). – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 1989. – 40 с.

Харитонов Ю.Д. Кормовая ценность степных пастбищ Юго-Западного Забайкалья. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1980. – 128 с.

Цаценкин И.А. Методические указания по экологической оценке кормовых угодий лесостепной и степной зон Сибири по растительному покрову. – Москва, 1974. – 63 с.

Юнусбаев У.Б. Методическое пособие «Сохранение биоразнообразия степей России для устойчивого сельского хозяйства». – Уфа, 2000. – 46 с.

### **АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ХВОЙНЫХ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В ПРИРОДНЫХ УСЛОВИЯХ СЕВЕРНОЙ ЕВРАЗИИ**

Г.Г. Суворова<sup>1</sup>, О.В. Дымова<sup>2</sup>, М.В. Оскорбина<sup>1</sup>, Л.С. Янькова<sup>1</sup>,  
Л.Д. Копытова<sup>1</sup>, Т.Е. Путилина<sup>1</sup>, Т.К. Головкин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, suvorova@sifibr.irk.ru

<sup>2</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, dymovao@ib.komisc.ru

Сохранение и продолжительное функционирование фотосинтетического аппарата (ФА) позволяет вечнозеленым хвойным занимать обширный ареал, распространяясь вплоть до гипоарктических широт. Вместе с тем, ФА доминирующих в бореальной зоне вечнозеленых хвойных древесных растений значительную часть года испытывает

неблагоприятное влияние низких температур, нередко в сочетании с высокой солнечной инсоляцией, включающей УФ радиацию, которая может оказывать неблагоприятное воздействие. Изучению сезонных изменений структурно-функциональной организации ФА представителей рода *Pinus* и *Picea* в годичном цикле посвящено немало работ [Ottander e.a., 1995; Ensminger e.a., 2004; Robakowski, 2005; Яцко и др., 2009, 2011]. Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о том, что реорганизация ФА при подготовке вечнозеленых растений к зимнему периоду направлена на снижение поглощения и усиление диссипации поглощенной световой энергии. В летний период, наоборот, ФА адаптируется к более полному использованию ФАР, что коррелирует с увеличением максимального квантового выхода ФСП ( $F_v/F_m$ ) [Ottander e.a., 1995; Robakowski, 2005]. Вместе с тем, представления о функционировании ФА у хвойных видов бореальной зоны в годичном цикле остаются неполными. В данной работе обобщены результаты многолетних исследований сезонных изменений фонда фотосинтетических пигментов и функциональных показателей ФА зрелой хвои древесных видов растений, произрастающих на Европейском Северо-Востоке и юге Восточной Сибири.

Район проведения исследований на Северо-Востоке европейской части России расположен в подзоне средней тайги. Наиболее морозным месяцем является январь (средняя температура воздуха  $-15 \dots -17$  °С), наиболее теплым – июль ( $+15 \dots +17$  °С) [Леса..., 1999]. Район проведения исследований на юге Восточной Сибири относится к подтаежной зоне. Средняя температура января составляет  $-20.9$  °С, июля –  $+17.6$  °С. Характерная особенность климата Восточной Сибири – развитие зимнего и летнего антициклонов, в результате которых зимой почва промерзает до 2 м глубины, а летом часты почвенные и атмосферные засухи. При этом уровень инсоляции, поступающей на территорию региона, высокий [Климат..., 1981].

В среднетаёжной зоне Европейского Северо-Востока объектами исследования служили *Abies sibirica* Ledeb. (пихта сибирская), *Picea obovata* Ledeb. (ель сибирская) и *Juniperus communis* L. (можжевельник обыкновенный). Возраст растений пихты и ели составлял 30–40 лет, можжевельника – около 20 лет. Пробы отбирали по сезонам года в трех-пяти кратной биологической повторности. Содержание фотосинтетических пигментов определяли спектрофотометрически [Яцко и др., 2009], показатели индуцированной флуоресценции хлорофилла листьев – с помощью портативного флуориметра РАМ 2100 (США). Нетто-фотосинтез (Фн) хвои измеряли с помощью ИК-газоанализатора LI-COR 7000 (США) по скорости поглощения  $CO_2$  после 30–40 мин адаптации побегов в комнатных условиях.

Исследования ФА *Pinus sylvestris* L. (сосны обыкновенной) и *Picea obovata* (ели сибирской), обитающих на юге Восточной Сибири, проводили в 2003–2012 гг. Возраст растений сосны и ели составлял 25–30 лет. Фн хвои определяли интактно, с использованием установки на основе ИК-газоанализатора «Infralyt-4» [Щербатюк, 1990] в течение трехдневных еженедельных опытов от начала видимого фотосинтеза в апреле и до его полного прекращения в третьей декаде октября. Отбор проб, определение содержания пигментов, измерение показателей индуцированной флуоресценции хлорофилла листьев и обработки результатов описаны ранее [Суворова и др., 2011; Софронова и др., 2012].

*Сезонная динамика содержания фотосинтетических пигментов.* В условиях подзоны средней тайги Европейского Северо-Востока по величине пигментного фонда (максимальная концентрация пигментов) и амплитуде его изменения в годичном цикле (разница между максимальными и минимальными концентрациями) виды располагаются в следующем порядке: можжевельник > пихта > ель. Не выявили существенных различий по сезонам года в соотношении хлорофиллов *a* и *b*. У пихты и ели в период с декабря по март отмечена тенденция к увеличению относительного содержания Хл *b*.

Соотношение зеленых и желтых пигментов в течение года у ели оставалось стабильным, у можжевельника изменялось незначительно, а у пихты повышалось параллельно увеличению концентрации хлорофиллов.

Для хвойных юга Восточной Сибири было показано снижение эффективности работы хлорофилла в 2–5 раз в стрессовых условиях почвенного увлажнения (засуха). При этом содержание Хл *a* у ели в большей степени зависело от оводненности хвои, у сосны – от температуры наиболее корнеобитаемого слоя почвы. При оптимальном почвенном увлажнении содержание хлорофиллов *a* и *b* у сосны и Хл *a* у ели достоверно коррелировало с динамикой температуры почвы и не зависело от водного статуса хвои. Следовательно, уровень накопления хлорофиллов у хвойных, произрастающих на холодных и подвергающихся летней засухе почвах Сибири, регулируется низкой водопоглощительной способностью корневой системы, что согласуется с данными [Schwarz, 1997].

*Показатели флуоресценции хлорофилла.* Для хвойных растений подзоны средней тайги Европейского Северо-Востока показатель максимального квантового выхода ФСII ( $Fv/Fm$ ), отражающий потенциальные возможности первичного разделения зарядов или количество активных комплексов ФСII, имел наименьшие значения к началу весны (март), в мае – сентябре достигал наибольших значений (0.82–0.85). Самые значительные изменения максимального квантового выхода ФСII отмечены у можжевельника: в декабре – марте величина  $Fv/Fm$  была в 2–5 раз ниже, чем в июле – сентябре. У ели и пихты снижение  $Fv/Fm$  было меньше. По максимальным значениям скорости транспорта электронов (ETR) при световом насыщении растения располагались в следующем порядке: ель > можжевельник > пихта. В декабре – марте величина ETR не превышала 50 мкмоль/м<sup>2</sup> с, а в июле – сентябре была в 3–4 раза выше.

В условиях юга Восточной Сибири у сосны в сентябре до наступления устойчивых заморозков происходило снижение числа фотосинтетических единиц (ФСЕ) в ответ на снижение освещенности. При этом функционально активные комплексы ФСII имели высокие значения  $Fv/Fm$ , равные 0.76–0.80. При среднесуточных температурах +2 – –2 °С в октябре возрастала роль тушения в антенне за счет обратимого тушения  $F_o$ ,  $F_m$ . Необратимое фотоингибирование ФСII происходило в последней декаде октября – начале ноября при снижении температуры до –7 °С [Софронова и др., 2012].

*CO<sub>2</sub>-газообмен хвои.* В условиях среднетаёжной зоны Европейского Северо-Востока листья исследованных видов хвойных интенсивно фотосинтезировали в июле – сентябре (2–4 мг CO<sub>2</sub>/ г сухой массы ч). В летний период наибольшую скорость Фн при насыщающей ФАР и температуре 20 °С имела хвоя пихты. Ель уступала пихте по этому показателю в 2 раза. Промежуточную позицию занимал можжевельник. Зимой и ранней весной после кратковременной адаптации при комнатных условиях способность хвои к нетто-поглощению CO<sub>2</sub> была очень низкой. На юге Восточной Сибири максимальная интенсивность фотосинтеза сосны и ели равнялась 3.2–4.8 мг CO<sub>2</sub>/(дм<sup>2</sup>ч), а начало видимого поглощения CO<sub>2</sub> у этих видов отмечалось в апреле – мае. Отсутствие положительного CO<sub>2</sub>-газообмена зимой и ранней весной свидетельствуют о подавлении цикла Кальвина, для функционирования которого необходимы АТФ и НАДФН, образующиеся на свету в ЭТЦ хлоропластов.

Итак, нами выявлена видовая и экологическая специфичность ФА хвойных на Севере. Установлены закономерности изменения содержания и соотношения зеленых и желтых пигментов в годичном цикле. Показано, что положительный CO<sub>2</sub>-газообмен начинается в конце апреля – начале мая и завершается в октябре, когда наблюдается снижение потенциальной фотохимической активности ФСII и возрастает нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла *a* ФСII. Эти изменения отражают адаптивные перестройки ФА и экологическую стратегию хвойных.

Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН «Живая природа. Динамика лесных экосистем» № 30.24 и гранта УрО РАН №12-С-4-1015.

#### Литература

Климат Иркутска / Под ред. Н.А. Швер, Н.П. Форманчук – Л.: Гидрометеиздат, 1981. – 246 с.

Леса Республики Коми / Под ред. Г.М. Козубова, А.И. Таскаева. – М., 1999. – 332 с.

Софронова В.Е., Максимов Т.Х., Коротаева Н.Е., Суворова Г.Г., Оскорбина М.В., Боровский Г.Б. Накопление белков теплового шока и дегидринов в хвое сосны обыкновенной на ранней стадии фотоингибирования ФСII в период осенней адаптации растений к зимним условиям // Доклады Академии Наук, 2012. – Т. 443. – № 3. – С. 1–4.

Суворова Г.Г., Оскорбина М.В., Копытова Л.Д., Янькова Л.С., Попова Е.В. Сезонные изменения фотосинтетической активности и зеленых пигментов у сосны обыкновенной и ели сибирской в оптимуме и экстремальных условиях увлажнения // Сиб. экол. журн., 2011. – № 6. – С. 851–860.

Щербатюк А.С. Многоканальные установки с CO<sub>2</sub>-газоанализаторами для лабораторных и полевых исследований // Инфракрасные газоанализаторы в изучении газообмена растений. – М.: Наука, 1990. – С. 38–54.

Яцко Я.Н., Дымова О.В., Головки Т.К. Пигментный комплекс зимне- и вечнозеленых растений в подзоне средней тайги европейского Северо-Востока // Бот. журн., 2009. – Т. 94. – № 12. – С. 1812–1820.

Яцко Я.Н., Дымова О.В., Головки Т.К. Дезпоксидация пигментов виолаксантинового цикла и тепловая диссипация световой энергии у трех бореальных видов вечнозеленых хвойных растений // Физиология растений, 2011. – Т. 58. – № 1. – С. 139–143.

Ensminger I., Sveshnikov D., Campbell D.A., Funks C., Jansson S., Lloyd J., Shibistova O., Öquist G. Intermittent Low Temperatures Constrain Spring Recovery of Photosynthesis in Boreal Scots Pine Forests // Global Change Biology, 2004. – V. 10. – P. 1–14.

Ottander C., Campbell D., Öquist G. Seasonal Changes in Photosystem II Organization and Pigment Composition in *Pinus sylvestris* // Planta, 1995. – V. 197. – P. 176–183.

Robakowski P. Species-specific Acclimation to Strong Shade Modifies Susceptibility of Conifers to Photoinhibition // Acta Physiol. Plant., 2005. – V. 27. – P. 255–263.

Schwarz P.A., Fahey T.J., Dawson T.E. Seasonal influence of air and soil temperature on photosynthesis in red spruce (*Picea rubens*) saplings // Tree Physiol, 1997. – V.17. – P. 187–194.

### ОСОБЕННОСТИ СТОКА УГЛЕРОДА В ЕЛОВЫЕ ДРЕВОСТОИ ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРО-ВОСТОКА И ЮГА ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Г.Г. Суворова<sup>1</sup>, В.В. Тужилкина<sup>2</sup>, М.В. Оскорбина<sup>1</sup>, Е.В. Попова<sup>1</sup>,  
Л.Д. Копытова<sup>1</sup>, Л.С. Янькова<sup>1</sup>, А.К. Филиппова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, suvorova@sifibr.irk.ru

<sup>2</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,  
Сыктывкар, tuzhilkina@ib.komisc.ru

Бореальные леса являются третьим по значимости после мирового океана и тропических лесов регуляторами содержания CO<sub>2</sub> в атмосфере. Две трети запаса углерода этих лесов сосредоточено в тайге [Углерод в экосистемах..., 1994]. Оценка годичного потока углерода в лесных экосистемах наиболее часто проводится по биопродуктивности [Исаев и



др. 1993; Кобак, 1988; Kurz et al., 1992; Nabuurs Monen, 1995 и др.]. Со стоком чаще отождествляется депонирование углерода в нетто – продукции (NPP – net primary production). Для разных ботанико-географических зон России установлена положительная связь между проективным содержанием хлорофилла (ХИ) в тканях растений на единицу площади лесных насаждений и количеством углерода, аккумулированного ими за год [Цельникер, Малкина, 1994; Воронин и др., 1995; Тужилкина и др., 1998]. Это позволяет использовать ХИ в качестве показателя продуктивности и для оценки стока углерода в таежные леса.

Вместе с тем, представления об особенностях стока углерода в хвойные древостои бореальной зоны остаются не полными. Не ясно, в какой мере показатели удельного стока углерода зависят от различий в методических подходах его определения и от воздействия экологических факторов в разных эколого-географических условиях.

В данном исследовании проведен сравнительный анализ результатов исследований связывания углерода в коренных ельниках, представленных бореальным видом *Picea obovata* Ledeb. (ель сибирская) на территории северной и средней тайги Европейского Северо-Востока России, и в еловых древостоях того же вида, расположенных на юге Восточной Сибири.

Характерная особенность климата северной и средней тайги Европейского Северо-Востока России – умеренно-холодная зима, прохладное лето с повышенным или избыточным количеством атмосферных осадков в летнее время [Коренные..., 2006]. Возраст еловых древостоев – 80–200 лет. Ельники черничные свежие произрастают на типичных подзолистых и глееподзолистых, а черничные влажные – на торфянисто-подзолисто-глееватых почвах.

Отличительной особенностью климата юга Восточной Сибири является недостаточное либо неравномерное атмосферное увлажнение, высокий уровень инсоляции и наличие азиатского антициклона, который в летнее время вызывает развитие засушливости и высоких температур, а в зимнее время – глубокое промерзание почвенного слоя [Климат...1981]. Еловые леса занимают четвертое место среди хвойных древостоев. Здесь ель расселяется, главным образом, вдоль рек и ручьев, где является преобладающей породой. Часто растет совместно с другими темнохвойными породами в виде примеси или второго яруса. На долю спелых (100–140 лет) и перестойных (более 140 лет) ельников приходится 58%. Почвы региона, занимаемые хвойными древостоями, по преимуществу дерново-подзолистые. По долинам рек и ручьев еловые древостои приурочены к аллювиальным (наносным) почвам [Ващук, Швиденко, 2006].

Для оценки связывания углерода в северо-восточных европейских ельниках по ХИ проводили спектрофотометрическое определение содержания хлорофиллов [Шлык, 1971] с использованием спектрофотометров СФ–16 (Ломо, Россия) и UV-1700 (Shimadzu, Япония). Полученные данные рассчитывали на ассимилирующую поверхность древесных растений на 1 га. Результаты расчетов ХИ были представлены ранее [Тужилкина и др., 1998]. Для этого же региона оценку стока углерода по биопродуктивности проводили определяя массу и прирост органического вещества древесных растений по методу модельных деревьев [Уткин, 1975] и рассчитывая содержание углерода в фитоценозах на основании концентрации углерода в отдельных фракциях фитомассы [Бобкова, Тужилкина, 2001]. Оценка стока углерода в еловые древостои юга Восточной Сибири рассчитывали на основе фотосинтетической продуктивности хвои за вегетацию. С этой целью измерения фотосинтетической активности ИК-газоанализатором «InfraLyt-4» [Щербатюк, 1990] проводили интактно в природных условиях в течение трехдневных экспериментов каждой недели с момента появления первых признаков положительного газообмена в апреле до его полного прекращения в первой декаде ноября. Результаты расчетов NPP были представлены ранее [Суворова и др., 2010].

В условиях северной тайги первичная нетто-продукция (NPP) фитомассы древостоя ельника черничного свежего составила 5.07, влажного – 3.76 т/га. При этом связывалось 2.49 и 1.86 т/га углерода в год соответственно (табл. 2). В спелых еловых древостоях средней тайги первичная нетто-продукция составила 7.22 и 6.77 т/га соответственно. Ежегодное депонирование С в среднетаежном ельнике черничном свежем составило 3.39, а влажном – 3.18 т/га.

Расчеты показали, что в условиях северной тайги ХИ, т.е. содержание хлорофилла в расчете на 1 га для ельника черничного свежего составило 13.0, влажного – 10.1 кг. Этим величинам соответствуют значения стока углерода, равные 1.69 и 1.32 т/га в год, что на 40–50% ниже, чем по биопродуктивности – 2.49 и 1.84 т/га в год соответственно. Проектное содержание хлорофилла в среднетаежных еловых фитоценозах в 2 раза выше по сравнению с севернотаежными ельниками. Аккумуляция углерода в процессе фотосинтеза, вычисленная по ХИ, составила 3.0–3.5 т С/га в год, что практически совпадает с данными стока С рассчитанными по биомассе (98–99%). Таким образом, наряду с весовым методом для косвенной оценки годичного фотосинтетического стока углерода в хвойные экосистемы Европейского Северо-Востока вполне допустимо использование хлорофилльного индекса. Наиболее точной является оценка стока С по ХИ для средней тайги.

Сравнение на юге Восточной Сибири сезонных изменений фотосинтетической продуктивности ели сибирской при экстремальном в 2003 г. и благоприятном почвенном увлажнении в 2010 г. показало снижение фотосинтетического поглощения CO<sub>2</sub> в 2 с лишним раза при засухе. Дневная продуктивность фотосинтеза показывала высокую сопряженность с температурой почвы в ранневесенний и осенний периоды вегетации. Для летнего периода выявлено, что фотосинтетическая продуктивность следует с запаздыванием за изменением запасов почвенной влаги. Кроме того, засуха летнего периода, как правило, сопровождающаяся высокими температурами воздуха, вызывала температурную депрессию фотосинтеза.

Для еловых древостоев, произрастающих на территории Иркутской области, нами была определена брутто-продукция (GPP) в расчете на единицу площади. В пересчете на NPP в единицах углерода в 2008–2010 гг. эти значения изменялись в диапазоне 2.7–3.3 т С га<sup>-1</sup> в год. При расчете NPP древостоев отдельных административных районов установлено, что наиболее продуктивными являются еловые древостои северных и центральных районов области, в южных районах продуктивность на порядок ниже. Отмеченная разница обусловлена особенностями распространения ельников и их большой ассимилирующей массой на единицу занимаемой площади.

Таким образом, древостои *Picea obovata* (ели сибирской) имеют наиболее близкие показатели стока углерода в условиях средней тайги Европейского Северо-Востока и в годы с оптимальным почвенным увлажнением в условиях юга Восточной Сибири.

*Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН «Живая природа. Динамика лесных экосистем» № 30.24 и грантов РФФИ № 07-04-00104 и УрО РАН №12-С-4-1015.*

#### Литература

Бобкова К.С., Тужилкина В.В. Содержание углерода и калорийность органического вещества в лесных экосистемах Севера // Экология, 2001. – № 1. – С. 69–71.

Ващук Л.Н., Швиденко А.З. Динамика лесных пространств Иркутской области. – Иркутск: ОАО «Иркут. обл. тип-фия №1», 2006. – 392с.

Воронин П.Ю., Ефимцев Е.И., Васильев А.А., Ватковский О.С., Мокроносков А.Т. Проектное содержание хлорофилла и биоразнообразие растительности основных ботанико-географических зон России // Физиология растений, 1995. – Т. 42. – С.295–302.

Исаев А.С., Коровин Г.Н., Уткин А.И., Пряжников А.А., Замолдчиков Д.Г.

Оценка запасов и годовичного депонирования углерода в фитомассе лесных экосистем России // Лесоведение, 1993. – № 5. – С.3–18.

Климат Иркутска / Под ред. Н.А. Швер, Н.П.Форманчук – Л.: Гидрометеиздат, 1981. – 246 с.

Кобак К.И. Биотические компоненты углеродного цикла. – Л., Гидрометеиздат, 1988. – 248 с.

Коренные еловые леса Севера: биоразнообразие, структура, функции. – СПб.: Наука, 2006. – 337 с.

Суворова Г.Г., Деловеров А.Т., Оскорбина М.В., Попова Е.В. Использование ГИС-технологий в построении карт фотосинтеза хвойных на больших территориях // Успехи современной биологии, 2010. – Т. 130. – № 3. – С. 27.

Тужилкина В.В., Бобкова К.С., Мартынюк З.П. Хлорофилльный индекс и фотосинтетический сток углерода в хвойные фитоценозы на европейском Севере России // Физиология растений, 1998. – Т.45. – № 4. – С.594–600.

Углерод в экосистемах лесов и болот России. / Под ред. В.А. Алексеева, Р.А. Бедси. – Красноярск: ИЛ СО РАН, 1994. – 170 с.

Уткин А.И. Биологическая продуктивность лесов // Лесоведение и лесоводство, 1975. – Т.1. – С. 9–190.

Цельникер Ю.Л., Малкина И.С. Хлорофилльный индекс как показатель годичной аккумуляции углерода древостоями леса // Физиология растений, 1994. – Т. 41. – С. 325–330.

Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений. – М.: Наука, 1971. – С. 154–170.

Щербатюк А.С. Многоканальные установки с CO<sub>2</sub>-газоанализаторами для лабораторных и полевых исследований // Инфракрасные газоанализаторы в изучении газообмена растений. – М.: Наука, 1990. – С. 38–54.

Kurz N.F., Apps M.J, Webb T.M., Mcnamee P.J. The carbon budget of the Canadian forest sector. Phase J. Information Report NOR-X-326. Forestry Canada, Northwest region. – Northern Forestry Centre, 1992. – 93 p.

Nabuurs G.J., Mohren G.M.J. Modelling analysis of potential carbon sequestration in select forest types // Can J. For. Res., 1995. – V. 25. – № 7. – P. 1157–1172.

## **О СИСТЕМЕ ТИП РАСТИТЕЛЬНОСТИ – ТИП РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ (СТРУКТУРА И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ)**

В.М. Урусов<sup>1</sup>, Л.И. Варченко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ДВФУ, Владивосток, semkin@tig.dvo.ru

<sup>2</sup> ТИГ ДВО РАН, Владивосток, semkin@tig.dvo.ru

На Дальнем Востоке России (ДВ) представлены 3 зональных типа растительности плюс подзоны среднеамурских и ханкайских лесостепей, в стадиале объединявшихся в зону полустепей с байрачными лесами на более влажном восточном фланге и содистых степей на западе [Гордеев, 1933, 1942, 1954а, б; Гордеев, Жернаков, 1954, 1955]. Однако кроме неморально-дубравного, бореально-таёжного, тундрового и лесостепного типов растительности в регионе представлены реликты тропических экосистем, а это лотосово-бразениевые водные сообщества в старицах рек системы Уссури и Амура и отчасти впадающих в Японское море не северней 44° с.ш. и фрагменты субтропических лесов дубов вутайшанского [Беляев, 2004; Урусов и др., 2010], чуждого [Урусов, 1988; и др.], ясеней носолистного, густого, узкокрылого, Зибольда [Урусов и др., 2001, 2010].

Типов растительного покрова тоже 3: лесной (сумма активных температур для стланиковых лесов 300–800°, гидротермический коэффициент – ГТК – ниже 1–1,5); луговой и лугово-степной (активные температуры за год от первых сотен градусов, ГТК от 0,5); тундровый (активных температур до первых сотен градусов, ГТК даже на инсолируемых склонах типично более 2–3). Вероятно, особым типом растительного покрова можно считать крупнотравье (суммы активных температур от 200 до 1000°, ГТК более 4) [Белая, 1978; Морозов, Белая, 1988; Морозов, 1991)], а подтипом – гмелинополынные В.П. Селедца [1981 и др.], контрастирующие и с лугами и с лугостепями мощным развитием полукустарника полыни Гмелина, стебли которой доживают до 20 лет при среднегодовых суммах активных температур более 2200° и реальном ГТК около 2, видимо «приморскую прерию» с её предстепным злаковым высокотравьем и тростниковыми плавнями, удивившими ещё Н.М. Пржевальского [1870], отчасти проблемой «прерий» у зарастающих береговых лагун занимались и мы [Урусов, 1988; Урусов и др., 2010/ 2011], а также сазовники.

Генезис крупнотравья моделировали неоднократно [Морозов, Белая, 1988; Ворошилов, 1982 а, б; Урусов, 1993 и др.] и сводится к формированию альпинотипного луга в режиме микротермности и глубокого снега, даже в случае более суровых зим обеспечивающего малое промерзание почв. Сходный генезис и у сахалино-курильских сазовников, которые можно рассматривать как одревесневший субальпийский луг.

В системе стадиял-межстадиял лесной и степной типы растительного покрова (впрочем, как лесной и тундровый в высоких широтах) взаимопроникают и в Ханкайском водосборе и водосборе Среднего Амура и к северу от 60° с.ш. Однако вдоль восточного мегасклона Сихотэ-Алиня зона взаимопроникновения осложнена наличием рассеянных субтропических элементов, которые отчасти ещё предстоит выявить или недавно выявлены [Урусов и др., 2001]. Причём как раз сейчас мы являемся современниками деградации автохтонных приморских лесостепей ДВ на берегах Японского и Охотского морей.

Генезис если не типов растительного покрова, то их местных подтипов всё ещё не ясен и, видимо, будет не скоро понят. Хотя, например, для островов залива Петра Великого (Японское море, север) «гмелинополынные» выделены более 25 лет назад, их соотношение с настоящими лугами ещё предстоит выяснить. Во-первых, это всё же не ординарные или настоящие кустарниковые группировки, а полукустарниковое предстепье морского берега, во-вторых, роль собственно трав довольно-таки скромна и ассоциации являются монодоминантными с участками деградации полынного яруса, на который приходится более 80% биомассы. Ситуация близка к таковой в сазовниках Курил и Сахалина, где курильские виды бамбука (в основном они субальпийцы по генезису) формируют более 90% биомассы и препятствуют поселению деревьев. Впрочем, крупнотравье, гмелинополынные, «прерию» и сазовники можно отнести к экотопам на переходе к древесно-кустарниковой растительности. И они удерживают территорию по крайней мере с ледникового климатического пессимума со слабыми позициями леса.

Тип растительности – это биокосная составляющая ландшафта природной зоны, которая в свою очередь определяется особенностями и динамикой климата и палеоклимата, географией и палеогеографией конкретных флор и зональных формаций. Типы растительности и типы растительного покрова соотносятся как флористический состав климатической области и жизненные формы её видов. То есть тип растительности включает целый спектр типов растительного покрова. Например, тундровый тип растительности, кроме лишайниково-мохового растительного покрова, может включать кочкарно-травяной, кустарничково-кустарниковый, тундро-степной и т.д. И всё это будет тундра, т.е. безлесье как тип растительного покрова, за которым в западинах на склонах речных террас и в речных долинах идут тундролесье – сочетание тундровых и

стланиковых группировок, стланиковые леса, таёжные леса, леса мелколиственных пород, луга [из лугового типа растительного покрова целесообразно вычленить подтипы лугов дальневосточного крупнотравья и курильского бамбука с крупнотравьем для Сахалинской области, альпийские луга для горных стран к западу и северо-западу от Сихотэ-Алиня и Восточно-Маньчжурских гор (в Сихотэ-Алине альпийских лугов нет [Урусов, 1988, 1996 и др.]), отмельный и супралиторальный, а может быть, заболоченных речных пойм] бореального генезиса.

Стланиковые леса и тайга, их дериваты и луга и их подтипы в широкой зоне от Кольского полуострова и долины р. Анадырь на севере и до Алтая, Саян, Забайкалья и Северного Сихотэ-Алиня на юге – это лесной и луговой типы растительного покрова бореального типа растительности. Уже к последнему в Центральной зоне Евразии прилегают лесостепи с их байрачными лесами по тальвегам и речным долинам, лугостепи и собственно степи как типы растительного покрова внутри степного типа растительности. Последний является ксероморфным вариантом как бореального, так и неморального типов растительности. Неморальный тип растительности существует по крайней мере в виде хвойно-широколиственного, широколиственного, можжевельново-абрикосового и байрачного типов лесного растительного покрова, застепнённых, разнотравных, высокотравных «прерийных» и гмелинопопынных лугов.

Субтропический тип растительности на ДВ России представлен сообществами многолетних экзотов стариц и пресных озёр (лотос, эвриала, бразения и др.), уникальными по редкости фрагментами дубняков (дуб зубчатый, леспедеца плотная, карпезий крупноголовый; дуб вутайшанский; дуб чуждый) и, может быть, остатками сосняков из сосны густоцветковой Тунберга (верховья р. Барабашевка) и сосняков (сосна густоцветковая) с подлеском из рододендрона Шлиппенбаха и вейгелы ранней (р. Пойма, р. Тесная, верховья; п-ов Гамова – Хасанский район Приморского края). Разумеется, элементы зимнеголых и субтропических лесов в Приморье распространены гораздо шире. К ним можно отнести вишню китайскую, жимолость раннецветущую, ясени густой и Зибольда, актинидию Джиральда, девичий виноград триострённый, пуэрарию дольчатую, беламканду китайскую и т.д. В Сахалинской области напоминают о субтропическом позавчера экзоты Кунашира, но только дуб зубчатый иногда здесь формирует сообщества, приближающиеся к субтропическим по участию и развитию вечнозелёных и экзотических форм. И ничего удивительного: настоящие субтропики можно выделять в зоне Пусана на юге Кореи при средней температуре января  $-2^{\circ}$  [Ujeki, 1943] и там, где зимой преобладают положительные температуры.

Лесной тип растительного покрова в разных природных зонах, в т.ч. высотных, различается формой доминирующих пород и организацией древостоев. На границе гипоарктических тундр и холодных каменных пустынь (это относится к высоким горам) преобладают стланцы, приподнимающиеся над поверхностью земли не более чем на 1,0–1,5 м. И в то же время кедровостланиковые и душекиевые заросли могут быть значительными по высоте и запасу древесины. Настоящие таёжные леса чаще одноярусные или с вертикально сомкнутыми древостоями, двухъярусность свойственна насаждениям на этапе коротковосстановительных смен, но для лесов неморального типа растительности она является признаком простейшего вертикального структурирования и при нарастании реального активного тепла сменяется 3–5-ярусностью древостоев в зоне лианово-грабовых хвойно-широколиственных лесов и зимнеголых лесов Кореи и Японии. В этом случае активных температур 2500–3600° С.

Зональными признаками типов растительности, таким образом, являются не только типы и классы растений, не только флороценоотипы в понимании Б.А. Юрцева, Р.В. Камелина [1991], но и формы их вертикального структурирования и объём органики, синтезируемой в год на единицу площади в разных экотопах, обусловленные как выра-

женностью и величиной сумм активных температур, так и гидротермическим коэффициентом контрастных экотопов.

#### Литература

- Белая Г.А. Экология доминантов камчатского крупнотравья. – М.: Наука, 1978. – 124 с.
- Беляев Е.А. Новый для флоры России дуб – *Quercus wutaishanica* (Fagaceae) из Приморского края // Бот. журн., 2004. – Т. 89. – № 10. – С. 1665–1672.
- Ворошилов В.Н. Методические аспекты изучения флоры советского Дальнего Востока: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. – М., 1982а. – 32 с.
- Ворошилов В.Н. Определитель растений советского Дальнего Востока. – М.: Наука, 1982б. – 672 с.
- Гордеев Т.П. Материалы по изучению почв и растительных сообществ Маньчжурии. 1. Введение. 2. Опыт составления гипотетической почвенной карты Северной Маньчжурии // Ежегодник Клуба естествознания и географии ХСМЛ. Харбин, 1933. – Т. 1. – С. 113–135.
- Гордеев Т.П. Материалы по изучению почв и растительных сообществ Маньчжурии (III) // Сборник научных работ пржевальцев. – Харбин, 1942. – С. 33–39 + карта.
- Гордеев Т.П. Очерк почв Северо-Восточного Китая и восточной части автономного района Внутренней Монголии // Acta Pedologica sinica, 1954а. – Т. 2. – №4. – С. 223–266 (на кит. яз., рез. рус.).
- Гордеев Т.П. Где восточный предел евразийской чернозёмной зоны? // Acta Pedologica sinica, 1954б. – Т. 2. – №4. С. 291–308 (на кит. яз., рез. рус.).
- Гордеев Т.П., Жернаков В.Н. Материалы почв и растительных сообществ Северо-Восточного Китая и автономного района Внутренней Монголии, собранные в 1950 г. // Acta Pedologica sinica, 1954. – Т. 2. – № 4. – С. 267–290 (на кит. яз., рез. рус.).
- Гордеев Т.П., Жернаков В.Н. Геоботанический очерк байрачных лесов в районе Харбина // Материалы по экологии и геоботанике. – Пекин, 1955. – №3. – С. 1–34 (на кит. яз., рез. рус.).
- Морозов В.Л. Структура и функционирование дальневосточного крупнотравья. Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. – Новосибирск: ЦС БС АН СССР, 1991. – 33 с.
- Морозов В.Л., Белая Г.А. Экология дальневосточного крупнотравья. – М.: Наука, 1988. – 255 с.
- Пржевальский Н.М. Путешествие в Уссурийский край 1867–1869 гг. – Спб., 1870. – 356 с.
- Селедец В.П. Растительность острова Большой Пелис // Цветковые растения Дальневосточного морского заповедника. – Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1981. – С. 115–129.
- Урусов В.М. Генезис растительности и рациональное природопользование на Дальнем Востоке. – Владивосток: ДВО АН СССР, 1988. – 356 с.
- Урусов В.М. Структура разнообразия и происхождение флоры и растительности юга Дальнего Востока. – Владивосток: ДВО РАН, 1993. – 129 с.
- Урусов В.М. География биологического разнообразия Дальнего Востока (сосудистые растения). – Владивосток: Дальнаука, 1996. – 245 с.
- Урусов В.М., Кудрявцева Е.П., Чипизубова М.Н. Новые для флоры России виды и гибриды растений из Приморского края // Исследование и конструирование ландшафтов Дальнего Востока и Сибири. – Владивосток: ДВО РАН, 2001. – Вып. 5. – С. 174–181.
- Урусов В.М., Варченко Л.И., Врищ Д.Л. и др. Владивосток – юг Приморья: вековая и современная динамика растительности. – Владивосток: Дальнаука, 2010/2011. –

420 с.

Юрцев Б.А., Камелин Р.В. Основные понятия и термины флорогенетики. – Пермь: ПГУ, 1991. – 81с.

Ujeki H. Distribution of the evergreen broad-leaved trees in the western coast of Korea // Acta Phytotascnomica et Geobotanica, Tokyo. – V. 12. – № 1. – P. 83–92.

## СОСУДИСТЫЕ РАСТЕНИЯ: К ЭВОЛЮЦИИ В ЗОНАХ КОНТАКТА ГЛОБАЛЬНОГО УРОВНЯ

В.М. Урусов<sup>1</sup>, Л.И. Варченко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ДВФУ, Владивосток, semkin@tig.dvo.ru

<sup>2</sup> ТИГ ДВО РАН, Владивосток, semkin@tig.dvo.ru

Детализация эволюционных процессов в зоне океанического влияния [Майоров и др., 2009; Urusov et al., 2011] и в высокогорьях Дальнего Востока России (ДВР) выявляет в том числе четвертичное и новейшее, связанное с периодом от 1,2 млн. л. н. видо- и формообразование за счёт особого разнообразия мутагенов, убыстрения мутационных процессов, уникальной жёсткости популяционных волн, разнообразия эдатопов и экотопов, становления гибридов на осыхавшем в ледниковые эпохи шельфе.

Экосистемы зоны заплеска в её широком понимании физиономически определяются не только супралиторальными видами, но и видами реликтовых береговых степей и предстепья ДВР. А поэтому к колосняку, осоке большеголовой, мертензии, хоризису, *Rosa maximowicziana*, *R. rugosa*, *R. rugosa* x *R. davurica*, эндемам супралиторали, включая остролодочки, полыни, дендрантемы, эдельвейсы, тимьяны, добавляются злаково-разнотравно-полынно-тимьянниковые фрагменты реликтовых степей, видимо, с *Celastrus orbiculata*, *Fraxinus sieboldiana*, *F. densata*, *F. stenopterus*.

Эндемиками зоны заплеска и береговой полосы являются не менее 40 видов сосудистых растений, не менее 25 видов из них эндемичны для Восточного Сихотэ-Алиня [Урусов, 1993 : 32]: *Festuca vorobievii*, *Silene olgae*, *Rosa maximowicziana*, *Potentilla tranzschellii*, *Oxytropis mandshurica*, *O. ruthenica*, *Peucedanum (Kitagawia) litorale*, несколько видов *Thymus*, возможно, апомиктных по генезису, *Anaphalis pterocaulon*, *Heteropappus saxotarinus*, *H. villosus*, *Dendranthema coreanum*. Всего на морских берегах юга ДВР из более чем 200 видов сосудистых растений преимущественно степного и дубравного генезиса зоны заплеска облигатными и близкими к ним являются почти 100. Среди них немало полиплоидов [Пробатова и др., 1984], которые мы относим к особенно лабильным и вовсе не всегда геологически молодым. Самыми молодыми на супралиторальных ДВР являются *Juniperus conferta* (Сахалин), этот можжевельник, видимо, сформирован к рубежу плейстоцена, но не ранее 1,2 млн. л. н., потому что похолодания позднего плейстоцена и падение уровня Мирового океана на 100–130 м позволили ему расселиться по внешней гряде дюн как Западного, так и Восточного Сахалина, вдоль всего побережья Японского моря в Японии и Корее и пройти на берег Жёлтого моря в КНДР [Урусов, Лобанова, Варченко, 2007 : 291]; *J. x coreana* = *J. conferta* x *J. sibirica* (голоценовый гибрид на береговых валах Сахалина и Кореи), *Rosa rugosa* x *R. davurica*, *R. marrettii* x *R. davurica* (берега севера Сихотэ-Алиня, голоцен), подвиды можжевельников [Урусов, 1981], возраст которых от раннечетвертичного до среднепозднетчетвертичного (плейстоценового).

Чаще, но не всегда, особенно молоды гибриды. Однако *Pinus x funebris*, *P. x densithunbergii*, *P. x funebri-thunbergiana*, *Abies x sachalinensis* возникли не позже эоплейстоцена. Некоторые таксоны обязаны своим происхождением погружению окраины Азии,

например, *Dendranthema coreanum*, *Sabina davurica* ssp. *maritima*, может быть, немалое для Северной Пацифики в целом число *Artemisia*, *Leontopodium*, *Saussurea*.

В чём же причина ускоренных мутагенеза и микро- и макроэволюционных процессов именно в береговой зоне? Во-первых, это разнообразие и широчайшая амплитуда климатических факторов, во-вторых, чрезвычайно концентрированный химизм осадков, в 1 литре которых до 19 мг хлора, 7,5 мг Na, что в 4–5 раз больше, чем на удалении 1–2 км, особый и разнообразный химизм воздуха и почвы [Качур, 1973 и др.; Максимова, 1982], в-третьих, радиационный фактор, в-четвёртых, постоянное наличие свободного для поселения новообразований пространства, сопоставимое с имеющимся на верхней границе леса, где также особенно многочисленны мутации, например, у *Abies sibirica* [Квитко, 2009], *A. nephrolepis*, *A. koreana* и почти также выражены свободные участки для поселения новых форм, в-пятых, как и на верхней границе растительности прогорающие участки здесь чередуются с уцелевающими, в той или иной степени изолированными и не преобладают, а сами пожары редки и относительно слабей действуют на биоту (потому что здесь как правило меньше сухих растений и ветоши), в-шестых, здесь более высоко разнообразие эдатопов и экотопов, в-седьмых, всегда в наличии разнообразие физических и химических барьеров, изолирующих как экотопы, так и участки берега в некоторой степени аналогично имеющему место на верхнем пределе растительности.

Н.С. Пробатова, Э.Г. Рудыка, В.Ю. Баркалов [2003] доказали, что эндемы Сахалина, даже тетраплоиды, возникли до квартера, но для Курил, суша которых многократно дробилась по крайней мере с раннего плейстоцена [Геологическое развитие ..., 1968], характерны неозндемы-полиплоиды (более 60%). В то же время на островах залива Петра Великого (Японское море) диплоидов менее 30%. Мы считаем, что так сказалось в значительной мере материковое геологическое прошлое этих островов.

Вполне вероятно, что в зонах перехода главным фактором эволюции является стрессирование физиологии генеративных процессов на уровне ценопопуляций видов в особых, а именно крайних, периферийных условиях среды. Напомним, что «наиболее распространено, вероятно, смещение ниш у относительно генерализованных видов к периферии пространства ресурсов у границ ареала, подтверждением чему служат частые случаи интенсивного формообразования в периферических изолятах» [Шенброт, 1984 : 171–172]. А предоставляющие ресурсы для «центробежно направленного действия отбора» [Шенброт, 1984] зоны не ограничиваются контактом континента и океана: физические (излучения разных типов, понижения и повышения температуры и влажности в т.ч. с высокой скоростью + стрессирование физиологии), физико-химические за счёт действия особых минералов и субстратов, химические (полихлорбифенилы, азотистая кислота и др. канцерогены), биологические, включая вирусы, мутагены действуют очень активно и в высокогорьях и в условиях, к ним приближенным вследствие контакта с надолго замерзающими морями, солоноватыми и пресными обширными водоёмами. Если общий фон мутаций определяется динамизмом солнечных активности и радиации, то учащение мутаций в зонах перехода, такие явления, как выраженный именно здесь меланизм у животных, стланиковость, сизый налёт, интенсивная опушенность поверхности всех частей организма иногда даже вместе у растений, вызываются другими факторами – химическими мутагенами, стрессируемой физиологией репродуктивного процесса. По крайней мере планетарной динамикой мутаций и особым разнообразием эдатопов это не объяснить.

Именно поэтому наиболее крупными вкладчиками в эндемизм флоры ДВР являются даже не высокогорья на верхнем пределе растительности, а берега окраинных морей, а это супралиторально-луговой и отчасти лесной и лугово-пойменный комплексы эндемов А.Е. Кожевникова [2007], которые мы бы назвали супралиторально-степными



эндемиами, а также аркто-монтанный комплекс эндемиков этого же автора и комплекс эндемиков крупнотравья [Урусов, 1993 и др.]. Причём при общем уровне эндемизма около 6% (у А.Е. Кожевникова – 10,8%), эндемиков супралиторального комплекса и береговых скал – около 20% от общего объёма данного флороцено типа, аркто-монтанных – примерно столько же (для гольцев Сихотэ-Алиня И.Б. Вышиным [1990] выявлен 14%-ый эндемизм), крупнотравного флороцено типа – до 25% [Урусов, 1993 : 36] при 10%-м эндемизме флоры крупнотравных лугов. Следовательно, в занимающих не более, чем первые проценты суши зонах перехода мутагенез результативней в разы, а мутации случаются на порядки чаще. Добавим к этому наличие свободных для заселения субстратов и получим эволюционный эффект зоны заплеска и зоны верхнего предела растительности: он может быть на порядки мощней, чем на других, пусть и громадных, территориях.

#### Литература

Вышин И.Б. Сосудистые растения высокогорий Сихотэ-Алиня. – Владивосток: ДВО АН СССР, 1990. – 186 с.

Геологическое развитие Японских островов. – М.: Мир, 1968. – 720 с.

Качур А.Н. Некоторые данные о химическом составе осадков приморской части Среднего Сихотэ-Алиня // Природа и человек. – Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1973. – С. 149–153.

Квитко О.В. Цитогенетическая и кариологическая характеристика пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.): Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Красноярск: Ин-т леса СО РАН, 2009. – 19 с.

Кожевников А.Е. Эндемичный элемент во флоре российского Дальнего Востока // Комаровские чтения БПИ ДВО РАН. – Владивосток: Дальнаука, 2007. – Вып. 54. – С. 8–81.

Майоров И.С., Урусов В.М., Варченко Л.И. К уникальности береговых экосистем залива Петра Великого // Вестн. КрасГАУ, 2009. – №2. – С. 57–66.

Максимова В.Ф. Фитоиндикация в системе океан-континент // Теоретические и практические аспекты биогеографии. – М.: Наука, 1982. – С. 149–162.

Пробатова Н.С., Селедец В.П., Соколовская А.П. Галофильные растения морских побережий советского Дальнего Востока: числа хромосом и экология // Комаровские чтения БПИ ДВНЦ АН СССР. – Владивосток, 1984. – Вып. 31. – С. 89–116.

Пробатова Н.С., Рудыка Э.Г., Баркалов В.Ю. Кариологические исследования сосудистой флоры морских побережий островов Дальнего Востока России // Растения в муссонном климате. III. – Владивосток: БСИ ДВО РАН, 2003. – С. 283–295.

Урусов В.М. Новые внутривидовые таксоны можжевельников из Приморья // Бюл. ГБС АН СССР, 1981. – Вып. 122. – С. 52–56.

Урусов В.М. Структура разнообразия и происхождения флоры и растительности юга Дальнего Востока. – Владивосток: ДВО РАН, 1993. – 129 с.

Урусов В.М., Лобанова И.И., Варченко Л.И. Хвойные российского Дальнего Востока – ценные объекты изучения, охраны, разведения и использования. – Владивосток: Дальнаука, 2007. – 440 с.

Шенброт Г.И. Организация сообществ как фактор, определяющий направление и темпы эволюции видов // Макроэволюция (матер. 1-й всесоюз. конф. по проблемам эволюции). – М.: Наука, 1984. – С. 170–172.

Urusov V.M., Varchenko L.I., Petropavlovskiy B.S. Zonation of the oceanic influence on the Far East of Russia // Proceedings of International conference Ecology and diversity of forest ecosystems in the Asiatic part of Russia 2010. – Kostelec nad Cernymi Lesy: Czech University of Life sciences, Prague. 2011. – P. 186–196.

## ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ ОСНОВНЫХ ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД В РЕЧНЫХ ДОЛИНАХ БАСЕЙНА ВЕРХОВИЙ РЕКИ КОЛЫМЫ

Н.В. Ухов, Е.Ф. Кузнецова

Институт Биологических проблем Севера ДВО РАН, Магадан, nukhov@mail.ru, kelizavetaova@mail.ru

Суровые климатические условия Северо-Востока России (среднегодовая температура воздуха ниже  $-3,5^{\circ}\text{C}$ ) обуславливают повсеместное развитие многолетнемерзлых пород, что не может ни отразиться на формировании почвенно-растительного покрова. Для большинства растений рассматриваемой территории потребность в атмосферном тепле вполне удовлетворительная, однако, имеет место дефицит его в почве, до 60% [Кривошеков, Александрова, 1990]. В связи с чем, большая часть растений, включая древесные, произрастает в экстремальных термических условиях [Москалюк, 2008].

Вследствие тепляющего влияния водотоков в долинах рек Северо-Востока России формируются пойменные талики, которые развиваются в хорошо проницаемых песчано-гравийно-галечниковых отложениях русловой фации. В них круглый год циркулируют грунтовые воды, а корневая система произрастающих деревьев располагается не в сезонно-талых, а сезонно-мерзлых аллювиальных отложениях. Уровень грунтовых вод в пойменных таликах определяется гидрологическим режимом реки, летом, особенно, в паводки и половодья сравнительно высокий, а зимой, в зимне-весеннюю межень («критический период») наиболее низкие. Амплитуда колебаний уровней воды может достигать 3–4 м. В таких сравнительно благоприятных эдафических условиях формируются азональные по продуктивности и видовому составу леса, например, сначала чозеневые, затем, тополево-чозеневые, наконец, тополево-ивовые [Ухов, 2008].

Рассматриваемая территория имеет горный характер рельефа, поэтому водотоки характеризуются высокой динамичностью русловых процессов, связанной с большими и резкими подъемами-спадами уровней воды в период половодий и паводков. Следует отметить, что в результате преобладающего в поймах процесса постепенно или циклического накопления отложений, здесь имеет место уменьшение тепляющего влияния подземных и поверхностных вод в теплый период года, ослабление дренажа снижение температуры корнеобитаемого слоя [Ухов, 2008].

Заканчивается цикл развития поймы формированием многолетнемерзлых пород, постепенным переходом пойм, сначала более высоких, а затем, более низких уровней в режим надпойменных террас, сопровождаемый сменой лиственного древостоя (чозениевого, тополево-чозениевого, тополево-ивового) зональными лиственничниками с кедровым стлаником. При этом, под влиянием как естественных (углубление русла водотоков), так и антропогенных (зарегулированность стока) процессов в результате строительства гидроэнергоузлов, сукцессионные процессы на пойменных террасах могут существенно ускоряться, например, поймах нижнего бьефа Колымской ГЭС [Ухов 2009].

Цель работы – оценить некоторые особенности строения, как адаптивные реакции, основных видов деревьев, их корневых систем, на изменение эдафических условий в поймах. Для этого исследуются влияние эдафических условий (накопление осадков, снижение температуры и темпов сезонного и многолетнего протаивания-промерзания аллювиального почвенного субстрата) на морфологию основных видов древесной растительности пойм. В связи с высокой динамичностью эдафических, преимущественно, эколого-геокриологических условий, адаптивная реакция деревьев, особенно их корневой системы деревьев ожидается наиболее существенной.

В течение нескольких лет авторы статьи исследовали строение основных видов деревьев и их корневых систем: лиственницы (*Larix cajanderi*), чозении (*Chosenia arbutifolia*), тополя (*Populus suaveolens*) в долине р. Колымы и ее крупного притока, р.

Буюнды. Результаты этих исследований свидетельствует о высокой экологической пластичности основных видов деревьев при изменении эдафических условий (накопление осадков или изменению дренажа почв, уровня грунтовых вод, глубины залегания, плотности, размеров обломочных фракций галечниковых отложений). На основе анализа полученных нами результатов дендроиндикационных исследований установлено избирательное влияние динамики эдафических условий на строении корневой системы для различных видов деревьев. Так, у лиственницы, при накоплении осадочного грунтового материала над корневой системой и значительного уменьшение глубины сезонного протаивания почво-грунтов при этом, отмечается ярусность корневой системы (до 5 горизонтов) или превышение в несколько вертикальных размеров скелетных корней по сравнению с горизонтальными (экологический фактор – температурный). У тополя адаптивная реакция заключается в последовательной смене типа корневой системы, от поверхностной и поверхностно-якорной до якорно-стержневой (экологический фактор – гидротермический режим почвенного субстрата), у чозении – выражается в резких изгибах и расщеплении нижних частей стержневых корней (экологический фактор – неоднородность строения и свойств аллювиальных галечниковых отложений).

На Верхне-Сеймчанском участке стационарных исследований авторами в 2010–2012 гг. были изучены особенности строения основных древесных пород, тополей (*Populus suaveolens*) и древовидных ив (Шеверина – *Salix schwerinii*, шелюга сибирская – *Salix rorida* и др.) обусловленные динамикой эдафических условий в процессе их развития. Следует отметить, что на таких участках эдафические условия произрастания древостоев определяются эколого-геокриологическими условиями и их динамикой, включая накопление осадков, снижение уровней поверхностных, и гидравлически связанных с ними подземных вод, обуславливающих снижение температуры, темпов сезонного оттаивания, повышение увлажнения и формирование многолетнемерзлого аллювиального почвенного субстрата в корнеобитаемом слое.

На площадке проведены эколого-геокриологические и дендроиндикационные исследований, включающие определение глубины залегания галечников, мерзлоты, строения корневой системы. В дополнении к известным дендрологическим исследованиям, включающим измерение, радиального прироста стволов выше корневой шейки, размеров стволов и кроны, изучены, в комплексе, радиальный, продольный приросты стволов, стержневого корня и поверхностно-боковых скелетных отростков корневой системы. Полевые исследования на площадке включали, проходку 4 почвенных разрезов, проведение динамического зондирования почво-грунтов щупом (более 50 определений), отбор керна возрастным буром Престлера (25 штук) из живых древостоев спилов (22 штуки), из поваленных бурей деревьев (стволов, на различном расстоянии от корневой шейки, и скелетных корней). Динамическое зондирование проводилось с целью определения глубины залегания галечника и мерзлоты, а так же наличие стержневых корней у деревьев.

По почвенным разрезам и результатам динамического зондирования на площадке выявлено наличие стержневых корней у тополей и древовидных ив. При этом установлено наличие многолетнемерзлых отложений на глубине 105–160 см и залегание в них нижней части стержневых корней. По годовым кольцам кернов и спилов, обобранным на различном расстоянии от корневой шейки, стволов, а так же корней определен возраст, динамика радиального и продольного их прироста.

Следует отметить, что в настоящее время на исследуемой площадке тополево-ивовый древостой в целом деградирует. Многие, особенно, древовидные ивы находятся в стадии отмирания, а большая часть тополей суховершинные, количество подроста и молодых деревьев лиственных пород не превышает 20%.

На примере, изучения морфологических особенностей наиболее детально изучен-

ного модельного дерева проследим адаптивные реакции всего тополево-ивового древо-стоя пробной площадки. Модельное дерево суховершинный тополь диаметром 44 см, которое в возрасте 101 год было повалено бурей в 2010 г., при этом стержневой корень был сломан, а его нижняя часть осталась в аллювиальных отложениях. Анализ годовых колец спилов у корневой шейки и скелетных корней, показывает, что за период развития дерева сменилось 3 «рабочих» части корневой системы, питающих ствол и крону:

- 1) стержневой корень возрастом 47 лет;
- 2) промежуточный горизонт, включающий 4 скелетных боковых отростка, расположенных на глубине около 50 см;
- 3) приповерхностный уровень, включающий 4 боковых скелетных отростка в возрасте 51–54 лет.

Характерно, что к моменту падения дерева стержневой корень сохранился в отмершем состоянии, скелетные корни промежуточного горизонта сгнили, а таковые современного приповерхностного слоя – живые. Следует отметить, что радиальные средние приросты скелетных корней за последние 10 лет их «работы» были близки и составляли около 3 мм, а ствола – 1,3 мм (у корневой шейки), 0,68 мм и 0,38 мм, соответственно, ниже и выше точки усыхания вершины.

Следовательно, сравнительный анализ эдафических и дендрохронологических данных показывает, что на сукцессионные процессы в этом биогеоценозе существенное влияние оказывают динамика эколого-геокриологических факторов, в первую очередь, ухудшение гидротермических условий в связи с формированием многолетнемерзлых аллювиальных отложений в пределах корнеобитаемого слоя. Отсюда следует, что при снижении темпов оттаивания аллювиального почвенного субстрата, нижние горизонты стержневой корневой системы в обеспечение элементами минерального питания и влагой надземной части дерева могли участвовать лишь во все более непродолжительное время, например, сначала – полный вегетационный период, затем – июле–августе, позже – только в августе, и т. д.

Таким образом, для экстремальных условий криолитозоны даже в высокопродуктивных аazonальных пойменных биогеоценозах под влиянием негативных эколого-геокриологических факторов, включается адаптивный механизм функционирования корневой системы лиственных деревьев проявляющийся в формировании боковых скелетных отростков проводящих и питающих корней, расположенных в более прогреваемых горизонтах аллювиального почвенного субстрата.

#### Литература

Кривошеков В.С., Александрова Э.А. Оценка агроклиматических и геотеплофизических характеристик северного луговодства на Чукотке // Опыт и проблемы агропромышленного использования озерного термокарста на Чукотке. – Магадан: СВКНИИ ДВО РАН, 1990. – С. 78–87.

Москалюк Т.А. Об адаптации деревьев и кустарников на Севере Дальнего Востока // Экология, 2008. – №2. – С. 83–92.

Ухов Н.В. Эколого-геокриологический анализ формирования лесных ландшафтов в долинах рек Севера Дальнего Востока. // Актуальные проблемы лесного комплекса: Сб. научн. тр. по итогам межд. научно-техн. конф «Лесной комплекс: состояние и перспективы развития» (19-21 ноября 2008, г. Брянск) – Брянск: БГИТА, 2008. – Ч. 1. – С. 194–196.

Ухов Н.В. Дендроиндикационные аспекты эколого-геокриологической оценки ландшафтов Северо-Востока России. // Тез. докл. Всерос. конф «Чтения памяти академика К.В. Симакова» (25–27 ноября 2009 г. Магадан). – Магадан: СВНЦ ДВО РАН, 2009. – с. 262–263.

### СЕКЦИЯ 3. ИНДИКАЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ОТРАЖАЮЩИЕ УРОВЕНЬ УСТОЙЧИВОСТИ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

#### ПОКАЗАТЕЛИ БРИОФЛОРЫ – БИОИНДИКАЦИОННЫЕ ПРИЗНАКИ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ ЗОНЫ ХВОЙНО-ШИРОКОЛИСТВЕННЫХ ЛЕСОВ

Л.Н. Анищенко

Брянский государственный университет им. акад. И.Г. Петровского, Брянск, eso\_egf@mail.ru

Биоразнообразие лесных экосистем зоны хвойно-широколиственных лесов в пределах Юго-Западного Нечерноземья России представлено 5 классами, 6 порядками, 11 союзами и 28 ассоциациями [Булохов, Соломещ, 2003]. Мохообразные – неотъемлемый компонент лесных местообитаний, информативно отражающий условия экотопа и выявляющий внешние воздействия на биосистему лесов. Бриоиндикация экологических режимов лесных фитоценозов – один из механизмов изучения состояния и планирования мероприятий по поддержанию устойчивости лесов. Цель работы – представить биоиндикационные показатели местообитаний малонарушенных лесных ценозов на уровне бриофлоры в зоне хвойно-широколиственных лесов района Юго-Западного Нечерноземья.

Бриофлора лесов изучалась маршрутным методом в полевые сезоны 1995-2011 гг. Эколого-ценотические группы видов (ЭЦГ) выделены способом классификационного подхода [Анищенко, 2008]. Биоэкологические группы мохообразных определены с использованием работ О.В. Смирновой и др. (2004). Номенклатура видов представлена в соответствии со списком мхов Восточной Европы и Северной Азии [Ignatov et al., 2006]. Экологический режим (влажность, кислотность, обеспеченность минеральным азотом субстрата) местообитания лесных сообществ рассчитан по шкалам Н. Ellenberg et al. и выражен в баллах [Ellenberg et al., 1992]. Названия синтаксонов лесной растительности соответствуют Кодексу фитосоциологической номенклатуры [Weber et al., 2000].

Мохообразные встречаются во всех типах лесов, нередко выступая в роли доминантов напочвенного покрова. Под пологом лесов зарегистрировано 117 видов и 1 разновидность бриофитов из 35 семейств и 72 родов, что составляет 69,4% от общего видового состава бриофлоры [Анищенко, 2009]. Наибольшим разнообразием обладают семейства *Amblystegiaceae*, *Dicranaceae*, *Mniaceae*, *Polytrichaceae*, *Brachytheciaceae*, *Sphagnaceae*. Большинство представителей семейств *Amblystegiaceae*, *Brachytheciaceae*, *Mniaceae* в лесных местообитаниях – эвтрофные мезофиты. Самые многовидовые рода в лесах – *Dicranum*, *Plagiomnium*, *Plagiothecium* и *Sphagnum* (по 7 видов), *Bryum* (6 видов), *Polytrichum*, *Sciurohypnum* (по 4 вида). Некоторые эпигейные виды, распространение которых в первую очередь определяется сосудистыми растениями, формирующими вертикальную и горизонтальную пространственную структуру ценозов, рекомендовано использовать как диагностические для различных типов леса. *Atrichum undulatum* (Hedw.) P. Beauv., *Rhodobryum roseum* (Hedw.) Limg. – наиболее часто отмечены для дубняков (лещиново-щитовниковых, липово-пойменных), *Polytrichum juniperinum* Hedw. – сосняков лишайниково-вересковых, *Polytrichum piliferum* Hedw. – сосняков багульниковых, *Leucobryum glaucum* (Hedw.) Aongstr. – ельников черничных, *Dicranum polysetum* – сосняков (брусничных, орляковых), *Mnium stellare* Hedw. – ельников липо-

вых, *Plagiomnium affine* (Bland.) T.J. Кор. – ельников ланцетноейниковых, *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) T.J. Кор., *Dicranella heteromalla* (Hedw.) Schimp. – дубняков перегонно-пойменных, *Pseudobryum cinclidioides* (Huebener) T.J. Кор. – дубняков липово-пойменных, *Thuidium delicatulum* (Hedw.) Bruch et al. – сосняки (лещиновокостяничные, орляковые), *Thuidium assimile* (Mitt.) A. Jaeger, *Bryum pallens* Sw. – сосняков багульниковых, *Thuidium recognitum* (Hedw.) Lindb., *Rhytidiadelphus triquetrus* (Hedw.) Warnst. – дубняков злаково-пойменных.

Особое значение имеют виды бриофлоры как индикаторы старовозрастных лесных фитоценозов, сохранившихся фрагментарно в староосвоенных районах исследованной лесотипологической зоны. Многочисленные исследования подтвердили связь высокого видового богатства компонентов живого напочвенного покрова и эпиксильных видов бриофлоры и возраста лесов [Баишева, 2010 и др.]. В зоне хвойно-широколиственных лесов бриоиндикаторы малонарушенных экологических режимов – виды рода *Anomodon*, *Homalia trichomanoides* (Hedw.) Bruch. et al., *Herzogiella seligeri* (Brid.) Z. Iwats., *Neckera pennata* Hedw., *Dicranum viride* (Sull. & Lesq.) Lindb., *Leucodon sciuroides* (Hedw.) Schwägr., *Pylaisia selwynii* Kindb., *Pseudobryum cinclidioides* (Huebener) T.J. Кор., *Polytrichastrum formosum* (Hedw.) G.L. Smith. По приуроченности к субстратам эти виды эпифитные или эпиксильные, по экобиоморфам – мезогигрофильные или гигрофильные, по требованиям к кислотности субстрата – с разнообразными экогрупп.

Экологические режимы местообитаний малонарушенных лесов наиболее полно отражает бриофлора ЭЦГ. Виды *Rhodobryum roseum*-группы распространены на дерново-слабо-подзолистых супесчаных и легко суглинистых почвах, свежих (5,8), слабокислых (5,7-6,5), достаточно обеспеченных минеральным азотом (5,3-5,9) в сообществах широколиственных лесов союза ***Quercus roboris-Tilion cordatae***. Диагностируют дубняки (лещиново-щитовниковые, липово-пойменные), липняки (лещиново-щитовниковые). Бриофлора *Oxyrrhynchium hians*-группы диагностирует неморальные еловые леса класса ***Vaccinio-Piceetea*** подсоюза ***Melico-Piceenion***, на свежих (5,0), слабокислых (5,3), достаточно обеспеченных минеральным азотом (5,8) почвах и «маркерные» для ельников (липовых, кислично-зеленчуковых, щитовниковых). Виды *Polytrichum juniperinum*-группы распространены в сосняках класса ***Pulsatillo-Pinetea*** на легко супесчаных и песчаных, бедных минеральным азотом (3,2-3,4), с недостаточным увлажнением, сухих (3,2-4,0), кислых (3,4-5,1) почвах (сосняки лишайково-вересковые). Мхи *Plagiomnium affine*-группы распространены в приручьевых ельниках, относящихся к подсоюзу ***Eu-Piceenion*** на дерново-подзолистых, влажных (5,0-6,5), кислых (3,5) почвах, бедных минеральным азотом (2,7-3,5), т.е. для ельников ланцетноейниковых. Многочисленная *Dicranum scoparium*-группа распространена в хвойных лесах союза ***Dicrano-Pinion*** на бедных минеральным азотом (2,4-2,6) и кислых (2,4-3,0) почвах для сосняков (брусничных, орляковых). Виды *Sphagnum fallax*-группы характерны для средне кислых почв (4,1-4,5), со средним содержанием минерального азота (4,7) и диагностируют сосняки пушице-сфагновые. Бриофлора *Leptodictyum riparium*-группы диагностируют экологические режимы пойменных ивняков (заболоченно-пойменных). Немногочисленные виды *Riccia fluitans*-группы диагностируют черноольшаники болотно-пойменные.

Биоэкологические группы (БЭГ) бриофитов позволяют диагностировать микросайты в горизонтальной мозаичности лесных сообществ и индицировать экологические режимы малонарушенных лесов. Наибольшим числом видов мхов представлены неморальная (66 видов 38,8%), боровая (39 видов, 22,9%) группа, водно-болотная (37 видов, 21,8%) группы. Наименьшее видовое разнообразие имеют степная (2 вида, 1,2 %), внутриводная (3 вида, 1,8%), суходольно-луговая (6 видов, 3,5 %), бореальная (8 видов, 4,7%), влажно-луговая (9 видов, 5,3%) группы. Во всех типах лесных сообществ за ис-

ключением ельников неморального состава, доминирующей является группа неморальных бриофитов: от 65,7% в широколиственных лесах с дубом до 45,5% в сосняках боровых. Второе место занимает боровая группа, наибольшая доля которой зарегистрирована в сосняках боровых (38,9%) и ельниках (41,5%). Виды водно-болотной группы расширяют своё участие в черноольховых и мелколиственных вторичных лесах, часто заболачивающихся, бореальной – в ельниках (32,5%). В сосняках боровых выше доля суходольно-луговых видов (6,4%), повышение участие (5,9%) которой зарегистрировано и в мелколиственных лесах. Структура основных БЭГ наиболее сходна в широколиственных лесах и черноольшаниках. В черноольшаниках закономерно водно-болотная группа представлена большим числом видов. Заметно различается по доле участию БЭГ разнообразие сосняков боровых и сосняков неморальных, ельников и других сообществ. Представительство водно-болотной группы в сосняках неморальных (2,9%) и отсутствие их в сосняках боровых, обусловлено различием ценотических условий, особенностями микросукцессионных процессов. Разнообразие БЭГ и соотношение их долей (в %) закономерно определяется складывающимся экологическим режимом, непосредственно определяющим существование бриофитов (особенно наземных форм). Таким образом, БЭГ хорошо диагностируют условия местообитаний в лесных сообществах.

Итак, показатели бриофлоры лесных сообществ рекомендованы для использования в биодиагностике лесных экосистем зоны хвойно-широколиственных лесов. Мохообразные, их субстратная приуроченность, видовая насыщенность бриофитами лесных ценозов – надежные информативные признаки типов леса и возраста лесных ценозов, ЭЦГ и БЭГ – экологических особенностей лесных местообитаний. Выявление малонарушенных лесных местообитаний с использованием видов-бриоиндикаторов позволит эффективно вести охрану лесов и проводить оптимизационные мероприятия по их сохранению.

#### Литература

Анищенко Л.Н. Региональные эколого-ценотические группы мохообразных древесно-кустарниковой и травяной растительности Брянской области (Юго-Западное Нечерноземье России) // Бюллетень МОИП. Отделение биологии. Т. 113. 2008. – Вып. 4. – С. 76-79.

Анищенко Л.Н. Биоразнообразие мохового покрова и перспективы его использования в фитоиндикации экосистем района хвойно-широколиственных лесов Европейской части РФ: Автореф. дисс. докт. сельскохоз. наук. – Брянск, 2009. – 33 с.

Баишева Э.З. Эколого-фитоценотическая структура бриокомпонента лесной растительности республики Башкортостан: Автореф. ...дисс. докт. биол. наук. – Уфа, 2010. – 32 с.

Булохов А.Д., Соломещ А.И. Эколого-флористическая классификация лесов Южного Нечерноземья России. – Брянск: Изд-во Брянск. гос. ун-та, 2003. – 359 с.

Смирнова О.В., Ханина Л.Г., Смирнов В.Э. Эколого-ценотические группы в растительном покрове лесного пояса Восточной Европы // Восточноевропейские леса: история в голоцене и современность. Кн. 1 / Отв.ред. О.В. Смирнова. – М.: Наука, 2004. – С. 165-175.

Ellenberg H., Weber H.E., Düll R., Wirth V., Werner W., Paulissen D, 1992. Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa // Scripta Geobotanica. Vol. 18. – 2. Auflage. – 258 S.

Ignatov M.S., Afonina O.M., Ignatova E.A. and others. The check-list of mosses of East Europe and North Asia // *Arctoa*. 2006. – Т. 15 – 1-130 p.

Weber H.E., Moravec J., Theourillat D.-P. International Code of Phytosociological nomenclature. 3<sup>rd</sup> additional // *Journal of Vegetation Science*. Vol. 11. – №5. 2000. – P. 739-768.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕОИНФОРМАЦИОННОЙ БАЗЫ ДАННЫХ ПО ХВОЕГРЫЗУЩИМ НАСЕКОМЫМ ДЛЯ АНАЛИЗА УСТОЙЧИВОСТИ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ БАЙКАЛЬСКОЙ СИБИРИ

И.А. Антонов<sup>1</sup>, Р.К. Федоров<sup>2</sup>, А.С. Гаченко<sup>2</sup>, Т.А. Агафонова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, [patologi@sifibr.irk.ru](mailto:patologi@sifibr.irk.ru)

<sup>2</sup>Институт динамики систем и теории управления СО РАН, Иркутск, [fedorov@icc.ru](mailto:fedorov@icc.ru), [gachenko@icc.ru](mailto:gachenko@icc.ru)

Хвоегрызущие насекомые или филлофаги – одна из главнейших групп вредителей леса. Их вредоносность варьирует в широких пределах – от практической неощутимой до экстремально высокой, когда филлофаги становятся мощным экологическим фактором, способствующим изменению структуры насаждений или даже смене типов растительности [Эпова, Плешанов, 1995]. Под Байкальской Сибирью рассматривается территория Иркутской области (Предбайкалье), Республики Бурятия (Западное Забайкалье) и Забайкальского края (Восточное Забайкалье).

В лаборатории природных и антропогенных экосистем СИФИБР СО РАН создана геоинформационная реляционная база данных по хвоегрызущим насекомым Байкальской Сибири и электронный каталог видов, хранящихся в коллекционных энтомологических фондах СИФИБР СО РАН [Плешанов и др., 2010]. Реляционная база данных состоит из набора связанных между собой таблиц. Данные о насекомых организованы в этих таблицах таким образом, чтобы обеспечить объединение разнородной информации о филлофагах, исключить дублирование информации, а также предоставить оперативный доступ к имеющимся сведениям. База данных включает сведения о 141 виде хвоегрызущих насекомых из 14 семейств, относящихся к двум отрядам – перепончатокрылым и чешуекрылым. Для каждого вида указаны географическое распространение, места находок, биотопическая приуроченность, кормовые породы и др.

Хорошо известно, что численность популяций каждого вида хвоегрызущих насекомых колеблется, то возрастая, то понижаясь. Знание закономерностей этих колебаний позволяет правильно осуществлять прогнозы массового появления насекомых и ожидаемого вреда, своевременно планировать и проводить истребительные мероприятия [Воронцов, 1963]. Насекомые, образующие периодические крупномасштабные вспышки, существенно отличаются от видов насекомых, не образующих таких вспышек. Прежде всего, они способны к быстрому отклику на изменения окружающей среды и качества кормового субстрата, обладают значительным потенциалом адаптации к этим изменениям, сильным полиморфизмом, высоким миграционным потенциалом [Wallner, 1987]. При этом стоит заметить, что высокая заселенность древостоев кладками не всегда приводит к сильной дефолиации крон деревьев [Колтунов, 2012]. Ключевым фактором функционирования механизма реализации вспышек служит фактор абиотического стресса (весенне-летние засухи), который и включает основной биотический фактор – способность этой группы насекомых-филлофагов к быстрой адаптации к изменению условий среды. [Колтунов, 2006]. Отмечено, что ухудшение водного режима деревьев во время засухи сопровождается понижением содержания смолистых веществ и уменьшением их токсичности, что благоприятствует росту численности филлофагов [Руднев, 1962].

Перспективными методами исследования факторов популяционной динамики насекомых-фитофагов являются дендрохронологические и, в первую очередь, метод количественного анализа отклика древостоев на фактор абиотического стресса с помощью анализа степени снижения годичного радиального прироста в год наступления засухи [Колтунов, 2012]. Использование дендрохронологического подхода позволило установить, что древостои совершенно по-разному реагируют на фактор абиотического



стресса (весенне-летние засухи). Эти различия заключались в разной степени снижения годового радиального прироста древостоев в год засухи. Уровень снижения годового радиального прироста хорошо коррелирует со степенью дефолиации крон деревьев, вызванной насекомыми-фитофагами [Колтунов, 2006].

А.С. Плешанов [1982] отметил, что предшествующая дефолиация снижает питательность корма и уменьшает его привлекательность для филлофагов. Это явление А.С. Плешанов рассматривал как процесс иммунизации лиственницы в ответ на повреждение филлофагами. Для ее преодоления у насекомых-филлофагов выработались разнообразные приспособления. Так, у многих пилильщиков развивается многолетняя диапауза, за время которой значительно нормализуется физиологическое состояние деревьев и восстанавливается их пригодность для развития филлофагов. У серой лиственничной листовертки и непарного шелкопряда, как адаптивное приспособление следует рассматривать массовые миграции бабочек из поврежденных насаждений [Плешанов, 1982].

Картографирование может служить основой для оптимизации систем защиты леса. Так, анализ разработанной карты зон вредоносности насекомых-филлофагов Азиатской России показывает, что оптимальные условия для вспышек размножения филлофагов на той или иной лесообразующей породе формируются, как правило, в очень ограниченных районах ее произрастания [Эпова, Плешанов, 1995]. Такие районы обычно отличаются неблагоприятными для данной породы лесорастительными условиями, что позволяет связать массовые размножения филлофагов со снижением энтоморезистентности деревьев. Особенно четко вредная деятельность насекомых-филлофагов проявляется на территориях с конкурентными отношениями между отдельными типами растительности (например, между лесом и степью) или между комплексами типов леса (например, таежными и подтаежными лесами) [Эпова, Плешанов, 1995].

В настоящее время база данных по хвоегрызущим насекомым была интегрирована в среду геопортала (<http://geos.icc.ru/>) который является специализированным сервисом для работы с пространственно-распределенными данными. Основная цель геопортала – это обеспечить оперативный доступ исследователей к разнообразным информационным ресурсам, которые располагаются в разных институтах Иркутского научного центра СО РАН. Это будет способствовать развитию научной информационно-аналитической среды и повышению эффективности научных исследований вообще и исследованию биоразнообразия Байкальского региона, в частности. Например, совместное использование геоинформационной базы данных по хвоегрызущим насекомым с геоинформационной базой данных многовековых древесно-кольцевых хронологий Прибайкалья и Забайкалья [Бычков и др., 2011] позволит выявить на исследуемой территории участки, на которых возможно образование крупномасштабных вспышек численности опасных видов хвоегрызущих насекомых.

Таким образом, будет создана информационно-поисковая система, которая может быть использована для определения предполагаемых мест вспышек массового размножения хвоегрызущих насекомых на территории Байкальской Сибири, и соответственно, для определения лесных участков с пониженной энтоморезистентностью древостоев.

*Работа выполнена при поддержке междисциплинарного интеграционного проекта СО РАН № 17.*

#### Литература

Бычков И.В., Гаченко А.С., Ружников Г.М. и др. Сервисы и инфраструктура пространственных данных междисциплинарных научных исследований геосистем и биоразнообразия Прибайкалья и Забайкалья // Геоинформационные технологии и матема-

тические модели для мониторинга и управления экологическими и социально-экономическими системами. – Барнаул: Пять плюс, 2011. – С. 145-156.

Воронцов А.И. Биологические основы защиты леса. – М.: Высшая школа, 1963. – 324 с.

Колтунов Е.В. Экология непарного шелкопряда в лесах Евразии. – Екатеринбург: Изд-во УрО РАН, 2006. – 260 с.

Колтунов Е.В. Дендрологические аспекты реакции древостоев на абиотический стресс как фактора популяционной динамики в очагах массового размножения насекомых-фитофагов // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2012. – Т. 5, № 1. – С. 52-69.

Плешанов А.С. Насекомые-дефолианты лиственных лесов Восточной Сибири. – Новосибирск: Наука, 1982. – 210 с.

Плешанов А.С., Бычков И.В., Антонов И.А. и др. Опыт применения геоинформационных баз данных для анализа энтомофауны Байкальской Сибири // Известия Самарского научного центра РАН. – 2010. – Т. 12, № 1 (5). – С. 1331-1334.

Руднев Д.Ф. Влияние физиологического состояния растений на массовое размножение вредителей леса // Зоол. журн. – 1962. – Т. 41, № 3. – С. 313-329.

Эпова В.И., Плешанов А.С. Зоны вредоносности насекомых-филлофагов Азиатской России. – Новосибирск: Наука. Сибирская издательская фирма РАН, 1995. – 147 с.

Wallner W.E. Factors affecting insect population dynamics: differences between outbreak and non-outbreak species // Ann. Rev. Entomol. – 1987. – Vol. 32. – P. 317-340.

## **ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РЫЖИХ ЛЕСНЫХ МУРАВЬЕВ И УСТОЙЧИВОСТЬ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ НА ТЕРРИТОРИИ БАЙКАЛЬСКОГО РЕГИОНА**

И.А. Антонов

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, [patologi@sifibr.irk.ru](mailto:patologi@sifibr.irk.ru)

Рыжие лесные муравьи (группа *Formica rufa* L.) играют исключительно важную роль в устойчивости лесных экосистем. Они являются полифагами с высокой численностью, которая более или менее постоянна во времени, и эффективно защищают лес от многих опасных насекомых-филлофагов (первичных вредителей). При этом очень важной особенностью питания муравьев является их реактивность, то есть способность переключаться на питание наиболее массовым видом добычи [Длусский, 1967]. Муравьи являются активными почвообразователями, повышающими содержание гумуса в почве вблизи муравейников. Это увеличивает устойчивость деревьев к негативным факторам разного генезиса. Кроме того, рыжие лесные муравьи способствуют расселению многих видов растений леса.

Данная работа является частью исследований пространственной структуры поселений рыжих лесных муравьев в Байкальском регионе. Цель исследований выявить крупные гнездовые комплексы рыжих лесных муравьев, которые могут служить исходными центрами колонизации ближайших территорий (окружающих насаждений) или источниками материала для искусственного расселения.

Материал был собран автором в 2010 г. на территории Иркутской области и Республики Бурятия (рис. 1). Сбор муравьев осуществлялся согласно общепринятой методике [Длусский, 1965]. Использовался маршрутный метод с полосой 10 м. В ходе маршрутных учетов протяженностью до 1–3 км с каждого обнаруженного муравейника (с купола) были взяты пробы по 30-100 рабочих особей.

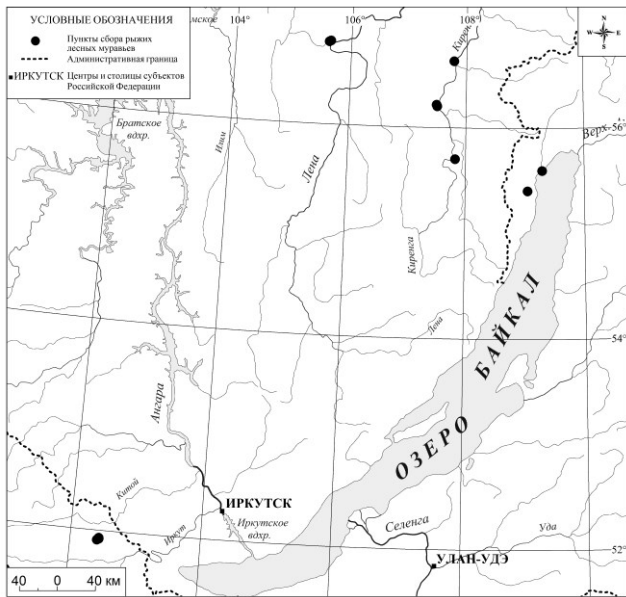
На территории Иркутской области было обработано 28 гнезд, расположенных недалеко от населенных пунктов, из которых 26 гнезд принадлежали четырем комплексам муравейников. Основную часть составляют гнезда *Formica aquilonia* Yagr. (96,4%), остальную – *Formica lugubris* Zett. (3,6%). На территории Республики Бурятия обработано 32 гнезда, из которых 30 гнезд входят в состав двух крупных комплексов. Гнезда *F. aquilonia* составляют 87,5%, остальную – *F. lugubris* (12,5%). Таким образом, отмечено значительное численное превосходство *F. aquilonia* на обследованной территории, что также отмечали другие авторы [Плешанов, 1966; Дмитриенко, 1979]. Из биологии муравья известно, что этот муравей, как правило, образует большие колонии [Длусский, 1967]. Он является эффективным хищником, уничтожая значительное число вредных насекомых. Особенно следует отметить то, что этот муравей при переселении хорошо приживается [Дмитриенко, Петренко, 1976]. Поэтому наиболее перспективным видом для расселения на территории Байкальского региона является *F. aquilonia* (северный лесной муравей).

При обследовании лесных насаждений возле населенных пунктов, все гнезда, так или иначе, либо были ослаблены, либо повреждены. В Иркутской области размеры гнезд: диаметр купола гнезда 85-204 см, высота гнезда 50-130 см. Измеренные гнезда располагались недалеко от города Усть-Кута, поселка городского типа Магистральный (Казачинско-Ленский район), деревни Ключи (Казачинско-Ленский район) и курорта «Талая» (Казачинско-Ленский район). В Республике Бурятия измеренные гнезда располагались только возле г. Северобайкальска: диаметр купола гнезда 80-130 см, высота гнезда 30-50 см.

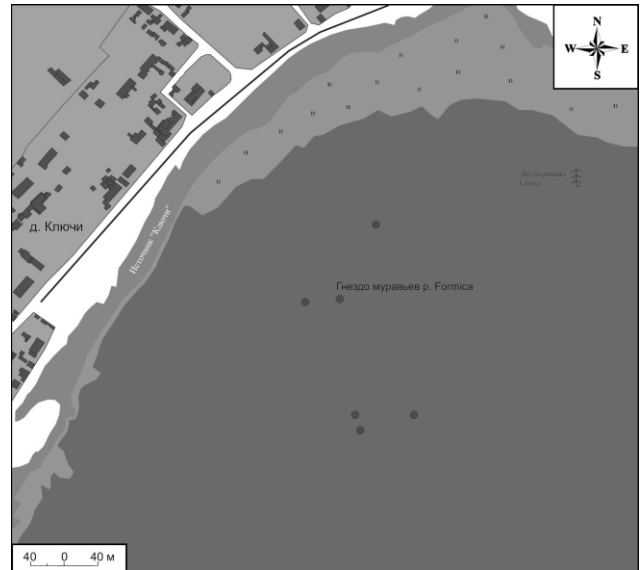
Все комплексы муравейников возле населенных пунктов не могут эффективно защитить окружающие лесные экосистемы. Самая большая плотность гнезд отмечена возле г. Усть-Кута и д. Ключи на территории Иркутской области и возле курорта «Аршан» на территории Республики Бурятия. На этих участках плотность гнезд максимум достигала 3-5 гнезд на 1 га, на остальных – менее 1 гнезда на 1 га (рис. 2). В природных экосистемах плотность гнезд северного лесного муравья обычно достигает 17 гнезд на 1 га [Дмитриенко, Петренко, 1976]. Плотности 3-4 гнезда на 1 га явно недостаточно для эффективной защиты древесных насаждений. Так, в очагах соснового пилильщика (*Diprion pini* L.) при наличии 8,5 гнезд на 1 га повреждение хвои ложногусеницами пилильщика было в пределах 0-10%, при 4 гнездах – 25%, а при отсутствии муравьев – 100% [Otto, 1967]. При этом следует отметить, что оптимальные участки для быстрого развития гнезд и успешного образования отводков составляют небольшую долю территории комплекса гнезд. Так, при 25-летнем учете комплекса *F. aquilonia* «Квили» (Верхне-Клязьминское лесничество Солнечногорского ОЛХ Московской области) выяснили, что пригодные для успешного развития муравейников *F. aquilonia* участки составляли чуть более 11% общей территории комплекса [Захаров, Саблин-Яворский, 1998].

В лесных экосистемах Байкальского региона большое значение имеет сибирский шелкопряд (*Dendrolimus superans sibiricus* Tschetv.). Убытки, наносимые шелкопрядом лесным экосистемам, не только сравнимы с губительным влиянием лесных пожаров, но часто превышают их [Дмитриенко, Петренко, 1976]. Так, за период с 1870 г. по 1963 г. в Саянском районе вспышек массового размножения шелкопряда погубил кедровые леса на площади 1,06 млн. га [Рожков, 1965].

Наблюдения, проведенные А.С. Рожковым [1965] в 1958-59 гг. в одном из участков Кырменского очага, показали, что муравьи группы *Formica rufa* играли значительно большую роль в сокращении численности гусениц сибирского шелкопряда, чем такой массовый паразит, как рогас (*Rhogas dendrolimi* (Mats.)), имеющий первостепенное значение в регулировании численности шелкопряда во время вспышек размножения и в



**Рис. 1. Карта пунктов сбора рыжих лесных муравьев.**



**Рис. 2. Комплекс гнезд рыжих лесных муравьев возле д. Ключи (дешифрирование космоснимков, скачанных с картографического сервиса Virtual Earth).**

периоды депрессии. Колония муравьев занимала площадь 15 га с плотностью 33 гнезда на 1 га, из которых около 20% относились к средним по размерам, а остальные были небольшими. Максимальное число гусениц муравьи уничтожали во II возрасте во время выхода шелкопряда с мест зимовки. В этот период в муравейник ежедневно поступало около 700 гусениц. На лиственницах, расположенных вблизи охотничьих троп, гусеницы почти полностью уничтожались муравьями. Гусеницы V и VI возрастов редко подвергались нападению рыжих лесных муравьев. Более поздние исследования доказали, что даже кратковременное контактирование муравьев с вредителями увеличивает смертность среди этих фитофагов [Дмитриенко, Петренко, 1976]. Участки, спасенные муравьями, выделяются среди шелкопрядников зеленой хвоей. Радиус защитного действия муравейников составляет 5-20 м [Дмитриенко, Петренко, 1976]. Величина контролируемой муравьями территории в первую очередь определяется величиной семьи, богатством ценоза, определяющим запас пищевых ресурсов, в меньшей степени размером самого муравейника.

Приведенные выше примеры говорят о том, что в лесных экосистемах муравьи уничтожают в основном первичных вредителей (фитофагов). Живущих скрытно (стволовые вредители) или малоподвижных насекомых они почти не трогают [Длусский, 1967]. На вторичных вредителей муравьи могут влиять лишь косвенно. Муравьями питаются насекомоядные птицы (например, дятел), которые активно истребляют стволовых вредителей.

В условиях антропогенной нагрузки, защитная роль муравьев существенно снижается. Во-первых, аэропромвыбросы, также как и насекомые-филлофаги, повреждают ассимиляционный аппарат деревьев, но, очевидно, муравьи никак не могут влиять на уровень промышленных выбросов. При этом площадь полей загрязнения существенно больше площади очагов массового размножения фитофагов. Так, под преимущественным воздействием эмиссий Усольско-Ангарского промцентра находится 650 тыс. га территории (сильно загрязняемой), Иркутского промцентра – 63 тыс. га, Шелеховского промцентра – 45 тыс. га [Михайлова, 2003]. В 1947 г. леса в Кырменской долине были сильно заражены сибирским шелкопрядом на площади в 26,4 тыс. га [Рошков, 1965]. В результате происходит ослабление древесных насаждений на огромной территории, и

создаются благоприятные условия для развития стволовых вредителей [Анисимова, Соков, 1975]. Во-вторых, из-за рекреационной нагрузки и изменений условий обитания уменьшается численность самих рыжих лесных муравьев, и происходят изменения в системе доминирования у муравьев [Антонов, 2008]. Вместо муравьев группы *Formica rufa* на первые роли выходит *Lasius niger* L., защитная роль которого ничтожно мала.

Таким образом, плотность гнезд муравьев группы *Formica rufa* может служить одним из индикаторов устойчивости лесной экосистемы.

#### Литература

Анисимова О.А., Соков М.К. Роль насекомых в древостоях, ослабленных токсичными выбросами алюминиевых заводов // Влияние антропогенных и природных факторов на хвойные деревья (патология и резистентность). – Иркутск: Изд-во «Восточно-Сибирская правда», 1975. – С. 61-68.

Антонов И.А. Мирмекокомплексы двух городов Южного Прибайкалья, находящихся в различных экологических условиях // Экология. – 2008. – № 6. – С. 478-479.

Длусский Г.М. Методы количественного учета почвообитающих муравьев // Зоол. журн. – 1965. – Т. 44, № 5. – С. 716-727.

Длусский Г.М. Муравьи рода Формика. – М.: Наука, 1967. – 236 с.

Дмитриенко В.К. Биоценоотические комплексы муравьев Бурятии // Фауна лесов бассейна оз. Байкал. – Новосибирск: Наука, 1979. – С. 93-108.

Дмитриенко В.К. Петренко Е.С. Муравьи таежных биоценозов Сибири. – Новосибирск: Наука, 1976. – 220 с.

Захаров А.А., Саблин-Яворский А. Д. Муравьи в изучении биологического разнообразия // Успехи совр. биологии. – 1998. – Т. 118, № 3. – С. 246-264.

Михайлова Т.А. Влияние промышленных выбросов на леса Байкальской природной территории // География и природные ресурсы. – 2003. – №1. – С. 51-59.

Плешанов А.С. Семейство Formicidae – муравьи // Вредители лиственницы сибирской. – М.: Наука, 1966. – С. 194-219.

Рожков А.С. Массовое размножение сибирского шелкопряда и меры борьбы с ним. – Москва: Наука, 1965. – 180 с.

Otto D. Zur Schutzwirkung von *Formica polyctena* Först. in einem Massenvermehrungsgebiet von *Diprion pini* L. // Z. angew. Zool. – 1967. – Bd. 54, H. 1. – S. 167-172.

### **МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ РАННЕЙ И ПОЗДНЕЙ КСИЛЕМЫ ГОДИЧНОГО ПРИРОСТА ХВОЙНЫХ КАК ПРИСПОСОБИТЕЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ НА ВОДНЫЙ СТРЕСС**

Г.Ф. Антонова, Т.В. Вараксина, Т.В. Железниченко, В.В. Стасова, И.А. Чаплыгина

Институт леса СО РАН, Красноярск, institute\_forest@ksc.krasn.ru

Для годичного прироста хвойных характерно присутствие двух слоев ксилемы – ранней и поздней, и хотя клетки этих типов ксилемы развиваются по одному сценарию, они значительно отличаются по радиальному размеру и толщине стенки. Физиологические и биохимические события, приводящие к морфологическим различиям, являются результатом изменений в метаболизме клеток под влиянием окружающих факторов. К основным факторам следует отнести обеспеченность тканей водой. Недостаток внешней влаги (внешний стресс), высокая температура и усиленная транспирация или избыток воды в почве (физиологическая засуха) вызывают снижение водного потенциала в развивающихся тканях (внутренний водный стресс). Изменения вдоль цепи метаболи-

ческих реакций в этих условиях провоцируют развитие клеток, продуцированных камбием, по типу поздних трахеид.

Целью исследований было выявление причинно-следственных связей морфогенеза трахеид с биохимическими изменениями в метаболизме клеток ксилемы в ходе формирования годичного прироста в стволах лиственницы сибирской и сосны обыкновенной. Изучали содержание некоторых наиболее важных метаболитов в развивающихся клетках ранней и поздней ксилемы: углеводов, как основного продукта фотосинтеза и основного субстрата метаболических реакций и структурных компонентов стенок трахеид; свободных и связанных фенолкарбоновых кислот, в частности, оксикоричных кислот, купирование которых с полимерами стенки останавливает рост клеток, и которые являются предшественниками лигнина; аскорбиновой (АК) и дегидроаскорбиновой (ДАК) кислот, отношение которых характеризует окислительно-восстановительный потенциал клеток; уроновых кислот, как субстрата АК и пектиновых веществ.

Материалом служили слои клеток формирующегося годичного слоя ксилемы в периоды образования ранней и поздней древесины. Собранные в раннем июне, конце июня и конце июля-начале августа клетки с разной стадией развития принадлежали либо ранней, либо поздней ксилеме. Слои клеток фиксировали 96%-ным этанолом и затем экстрагировали 80% водным раствором этанола. В экстрактах определяли углеводы, фракции фенолкарбоновых кислот, АК и ДАК, уроновые кислоты. Содержание компонентов рассчитывали на сухую массу и на клетку. Сухой остаток анализировали на содержание целлюлозы, гемицеллюлоз и лигнина.

В ходе сезона содержание углеводов в камбиальной зоне уменьшалось, также как и содержание АК, принимающей участие в делении камбиальных инициалей. Клетки камбиальной зоны формирующейся ранней ксилемы содержали углеводов в два раза больше, чем камбиальная зона формирующейся поздней ксилемы. Напротив, проводящая флоэма в период образования ранней ксилемы содержала в два раза меньше углеводов, чем при образовании поздней, что соответствует активности полностью сформированного ассимиляционного аппарата.

В начале роста клеток содержание углеводов (на клетку) увеличивалось по сравнению с камбиальной зоной в два раза и затем уменьшалось со снижением скорости роста. Это обусловлено усилением связывания полимеров клеточной стенки диферуловыми мостиками, что соответствует увеличению количества (на клетку) связанных фенолкарбоновых кислот и снижению такого антиоксиданта, как АК. Отношение АК/ДАК значительно ниже в ранних трахеидах, чем в поздних. В соответствии с этим радиальный размер поздних трахеид меньше, чем ранних.

Установлено, что при формировании как ранних, так и поздних трахеид высокая скорость первой стадии развития вторичной стенки обеспечивается более высоким уровнем субстрата. Вдоль ряда развивающихся трахеид максимальное (в расчете на клетку) количество углеводов содержалось на начальном этапе стадии развития вторичных стенок, что указывает на усиленный транспорт субстратов к месту синтеза основной биомассы стенок трахеид. Низкий уровень уроновых кислот, субстрата для пектиновых веществ, на первом этапе роста обусловлен их расходом на синтез этих веществ, основных составляющих срединных пластинок и первичных стенок развивающихся клеток, и на синтез аскорбата – регулятора морфогенеза клеток. Высокий уровень уроновых кислот на втором этапе роста соответствует снижению их потребления на синтез этих соединений.

Повышенное содержание углеводов в клетках ранней ксилемы по сравнению с клетками поздней показывает, что развитие вторичных стенок клеток ранних трахеид не ограничивается по субстрату. Причиной меньшей толщины стенок ранних трахеид является сокращение времени их развития в зоне вторичного утолщения из-за присут-

ствия свободных коричных кислот, которые способствуют разрушению протопласта. Состав фенолкарбоновых кислот, в частности оксикоричных менялся в ходе вторичного утолщения. Они находились в основном в связанной форме в виде простых и сложных эфиров, и на всех этапах развития трахеид в клетках поздней ксилемы связанных форм было больше, чем в ранней.

Лигнификация двух слоев ксилемы годичного прироста протекает в различных условиях из-за разницы в структуре стенок, изменения содержания и состава предшественников лигнина – оксикоричных кислот и условий их полимеризации. Перед лигнификацией количество свободных оксикоричных кислот, предшественников монолигнолов, в клетках ранней ксилемы было в два раза больше, чем в клетках поздней, тогда как связанных кислот было больше в поздней. В ходе отложения лигнина содержание свободных оксикоричных кислот в ранней ксилеме уменьшалось, тогда как в поздних клетках, напротив, увеличивалось. В ходе лигнификации уровень связанных кислот последовательно повышался в клетках ранней ксилемы и уменьшался в клетках поздней. Изменялось содержание аскорбиновой кислоты, определяющей доступность оксикоричных кислот последующей дегидрогенной полимеризации. Отношение АК/ДАК в ходе лигнификации ранней и поздней ксилемы менялось противоположно. В ранней ксилеме оно уменьшалось от начала лигнификации в сторону зрелых клеток, тогда как к зрелым клеткам поздней ксилемы, напротив, увеличивалось, что указывает на разный уровень окислительно-восстановительных процессов при развитии клеток этих слоев годичного прироста.

В соответствии с этими изменениями при формировании ранней ксилемы интенсивность синтеза лигнина увеличивается постепенно, достигая максимума к концу созревания трахеид. В ходе развития поздней ксилемы наибольшее количество лигнина откладывается в самом начале лигнификации и уменьшается по мере созревания трахеид. Эти изменения коррелируют с количеством и составом оксикоричных кислот, как субстратов в синтезе монолигнолов – предшественников лигнина. Разные условия лигнификации ранней и поздней ксилемы ведут к изменению в структуре лигнина. Отношение синрингильных единиц к гваяцильным в структуре лигнина ранней ксилемы увеличивается с созреванием трахеид, тогда как в лигнине поздней, напротив, уменьшается.

## **ТРЕНДЫ СОДЕРЖАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В ХВОЕ ПИХТЫ СИБИРСКОЙ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ НАРУШЕНИЯ ГОМЕОСТАЗА**

Е.В. Бажина

Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, genetics@ksc.krasn.ru

В последние десятилетия в связи с бурным ростом промышленности, сопровождаемым резким возрастанием выбросов поллютантов, появились нарушения в состоянии растительности и, в частности, лесных экосистем [Лесные экосистемы, 1990, Бажина, Третьякова, 2001, Forest decline, 1993]. Наиболее сильно поражаются леса, непосредственно примыкающие к городам и промышленным объектам, хотя загрязнители распространяются на сотни и тысячи гектар. Анализ климатических особенностей горных систем Южной Сибири позволил Н. П. Поликарпову с соавт. [1986] дать прогноз динамики повреждения лесов: в связи с особенностями переноса воздушных масс и перехвата осадков горными склонами следует ожидать осаждения техногенных выбросов в верхних частях горных систем избыточно влажных районов. Наибольшая опасность повреждения создается в Кузнецком Алатау, в горно-таежных экосистемах северо-

восточных отрогов Западного Саяна и западных отрогов Восточного Саяна, где в настоящее время и наблюдается усыхание наиболее чувствительных темнохвойных видов (пихты сибирской и кедра сибирского).

Лесные древесные виды адаптировались к различным факторам на протяжении всего голоцена, однако в условиях резкого антропогенного изменения среды они оказались не устойчивыми к новым повреждающим факторам. Негативные изменения наблюдаются на разных уровнях экосистемной организации: гибель отдельных видов, частичное или полное разрушение древесных популяций, деградация лесных экосистем в целом [Forest Decline, 1993]. У деревьев отмечается падение радиального прироста, изменение структуры крон, их дехромация, дефолиация, усыхание, преждевременное старение и изменения химического состава хвои [Барактенова, 1993, Бажина, Третьякова, 2001, Михайлова и др., 2003].

Цель настоящего исследования заключалась в выявлении особенностей повреждения темнохвойных лесов в лесных экосистемах северо-восточного Алтая.

Исследования состояния темнохвойных лесов были впервые проведены в наиболее теплой и влажной западной части гор Южной Сибири на территории Алтайского ГПБЗ (бассейн р. Чулышман). Климат района работ - континентальный (среднегодовая температура воздуха плюс 4°C), продолжительность вегетационного периода - от 60 дней в горах (на высотах 1000-2000 м над у. м.) до 160 дней на берегу Телецкого озера. Алтайский заповедник характеризуется хорошей сохранностью экосистем, в которых поддерживается естественный ход природных процессов, загрязнение территории связано, в основном, с многолетними запусками ракет Байконурского полигона (<http://oopt.info/altai/>).

Анализ жизненного состояния разновысотных лесных биоценозов [Алексеев, 1989] и модельных деревьев пихты сибирской в возрасте от 50 до 240 лет с устойчивым семеношением (высота деревьев 6,0-15,8 м, диаметр на высоте груди – 9,0-19,5 см) [Третьякова, Бажина, 1995] был проведен на склонах разных экспозиций, в пихтачах разно- и крупнотравной групп типов леса. Характеристика п/п дана в таблице 1. Сбор образцов для анализа химического состава хвои проведен на всех п/п со здоровых и усыхающих деревьев.

**Жизненное состояние лесных биоценозов.** В горных экосистемах Алтая преобладают ненарушенные лесные биоценозы с индексом жизненного состояния 90,0-98,2 (табл. 1). Усыхание носит очаговый характер. Очаги усыхания наблюдаются на высотах более 700 м над уровнем моря, на склонах как юго-западных, так и северо-восточных экспозиций, где индекс жизненного состояния лесных биоценозов снижается до 71,8-74,3. В тоже время, на склонах восточных экспозиций как на значительных высотах, так и в долинах рек, отмечены ненарушенные биоценозы (п/п № 1, 5, 6, 9, 10). В горах Алтая, как и в других частях гор Южной Сибири, усыханию подвержена преимущественно пихта сибирская, кедр сибирский повреждается в меньшей степени.

**Анализ модельных деревьев** показал, что усыхание пихты в горных экосистемах Алтая характеризуется специфическими особенностями: подверхушечное усыхание, характерное для данного вида [Третьякова, Бажина, 1995] встречалось редко, лишь у деревьев старшего возраста - 120-240 лет (в восточных районах гор Южной Сибири - 90 и более лет). Как правило, повреждение ветвей, как пихты, так и кедра наблюдалось равномерно по всей кроне – концы ветвей чернеют и усыхают, хвоя отдельных ветвей рыжеет и опадает. Однако даже при отсутствии подверхушечного усыхания у поврежденных деревьев пихты наблюдались изменения в морфоструктуре кроны. Плагитропизм ветвей, характерный для данного вида сохранялся только в верхней части кроны (угол отхождения ветвей - 51 до 63 град в верхнем женском ярусе и от 82 до 95 град в следующем за ним мужском). В нижней вегетативной части кроны плагитропизм изменялся



на положительный геотропизм (угол отхождения ветвей увеличивается до 120-127град). При этом, протяженность генеративных ярусов у деревьев разного возраста составляла: женского от 0,6 м у молодых, 50-летних, до 1,7 м - у 240-летних деревьев, мужской генеративный ярус у молодых деревьев отсутствовал, в возрасте 120-240лет занимал от 1,8 до 4,9м протяженности кроны. Нижнюю часть кроны (1,9-9,6м) занимал аполовой, вегетативный ярус. Линейный прирост деревьев пихты сибирской закономерно снижается с возрастом. В ювенильный период прирост составляет максимальные величины (18,0-36,0 см/год у разных деревьев), снижаясь в мужском генеративном ярусе (15,3-22,5см/год) и женском ярусе (7,9-26,0см/год).

Таблица 1

**Характеристика пробных площадей Алтайского ГПБЗ**

№ п/п и экспозиция склона	Координаты п/п, с.ш./в.д.	Высота над у.м., м	Состав древесно-стоя	Индекс жизненного состояния	Класс лесных биоценозов
Бассейн р. Баяс					
1. Долина реки	$\frac{51^{\circ}20}{87^{\circ}51}$	542	3К7П	90,0	Ненарушенный
2. Долина реки	$\frac{51^{\circ}19'}{87^{\circ}52'}$	770	3К7П+Б	71,4	Поврежденный
3. Юго-западный	$\frac{51^{\circ}19'}{87^{\circ}61'}$	1000-1010	3К7П	71,8	Поврежденный
4. Северо-восточный	$\frac{51^{\circ}19'}{87^{\circ}59'}$	1100	7К3П	74,3	Поврежденный
5. Северо-восточный	$\frac{51^{\circ}18'}{87^{\circ}55'}$	1800-2000	8К2П	98,2	Ненарушенный
6. Юго-восточный	$\frac{51^{\circ}18'}{87^{\circ}55'}$	1800-2000	8К2П	93,6	Ненарушенный
7. Южный	$\frac{51^{\circ}18}{87^{\circ}55}$	1914	6К4П+Л	89,4	Начальное повреждение
8. Юго-западный	$\frac{51^{\circ}18}{87^{\circ}55}$	1900	9К1П	71.8	Поврежденный
Долина р. Кыга					
9. Долина реки	$\frac{51^{\circ}22}{87^{\circ}51}$	455м	2К8П	91.6	Ненарушенный
10. Долина реки	$\frac{51^{\circ}20}{87^{\circ}54}$	472	4К6П	93,0	Ненарушенный

**Элементный состав хвои пихты сибирской.** Содержание элементов в хвое пихты ниже порога токсичности и не превышает эту величину для незагрязненных почв и фоновых районов Сибири [Ильин, 1991, Санина и др., 2008]. Ряд накопления макроэлементов в лесных экосистемах Северо-восточного Алтая имеет следующий вид: N> Ca> Mg> S> Al. Ряды накопления микроэлементов различаются в зависимости от состояния деревьев: у здоровых - Mn>Fe>Zn>F>Cu>Ni>Pb>Co>Cd, у усыхающих деревьев, растущих в тех же условиях: Mn>Fe>Zn>F>Cu>Pb>Ni>Cd>Co. В целом, у усыхающих деревьев содержание кальция, железа, алюминия, свинца, фтора, кадмия и кобальта выше, чем у здоровых, а никеля в два раза ниже. Содержание азота, меди, магния, серы в хвое здоровых деревьев имеет тенденции к снижению. Содержание такого важного элемента – биофила, как марганец практически не изменяется у деревьев различного состояния (вариабельность 0,38%). Однако, соотношение Fe/Mn в хвое усыхающих деревьев в 1,48 раз выше, чем в хвое здоровых деревьев, что может свидетельствовать об ингибировании накопления биофильного марганца. Содержание цинка играю-

шего важную роль в метаболизме растений у усыхающих деревьев снижается на 8,7%, что является, возможно, результатом антагонистических взаимоотношений между Fe и Zn, Cd и Zn [Ильин, 1991, Михайлова и др., 2003]. Усыхание деревьев сопровождается также тенденцией к снижению содержания в хвое подвижных элементов питания (азот, магний) и увеличением содержания малоподвижных элементов (кальция, марганца, алюминия).

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 11-04-00281.*

#### Литература

Алексеев В.А. Диагностика жизненного состояния деревьев и древостоев // Лесоведение. 1989. № 4. С. 51–57.

Бажина Е.В. Третьякова И.Н. К проблеме усыхания пихтовых лесов. Успехи современной биологии, 2001, т.121, № 6. С. 626-631.

Барахтенкова Л.А. Влияние поллютантов на обмен веществ и состояние сосны обыкновенной в условиях техногенного загрязнения. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Новосибирск, 1993. с.

Ильин В.Б. Тяжелые металлы в системе почва-растение. Новосибирск, 1991. 151 с.

Лесные экосистемы и атмосферное загрязнение (под ред. В.А. Алексеева). Л.: Наука. Ленинградское отделение. 1990. 200с.

Михайлова Т.А., Бережная Н.С., Игнатъева О.В. Афанасьева Л.В. Изменение баланса элементов в хвое сосны обыкновенной при техногенном загрязнении // Сибирский экологический журнал. 2003. Т. 10. № 6. С. 755-762.

Поликарпов Н.П., Чебакова Н.М., Назимова Д.И. Климат и горные леса Южной Сибири. Новосибирск: Наука. 1986. 226с.

Санина Н.Б., Филиппова Л.А., Юркова И.В., Чупарина Е.В. Особенности химического состава растительности Приольхонья // География и природные ресурсы. 2008. № 1. С. 75–83.

Третьякова И.Н., Бажина Е.В. Морфоструктура кроны и состояние генеративной сферы у пихты сибирской в нарушенных лесных экосистемах близ озера Байкал // Известия РАН. Сер. биол. 1995. № 6. С. 685-692.

Forest Decline in the Atlantic and Pacific Region/ R.F. Huettl, D. Mueller-Dombois (eds.). - Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1993. 366 p.

### **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ НА БИОГЕОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ «ПОЧВА – РАСТЕНИЕ» В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕНЕЗА**

Г.А. Белоголова<sup>1</sup>, М.Г. Соколова<sup>2</sup>, О.Н. Гордеева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, Иркутск, gabel@igc.irk.ru

<sup>2</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, SokolovaMG@sifibr.irk.ru

Проведен модельный эксперимент по изучению влияния живых ризосферных бактерий *Azotobacter* и *Bacillus*, входящих в состав биопрепаратов азотобактерина, фосфобактерина и кремнебактерина, на особенности поведения As, Cd, Pb и P в системе «почва-растение».

Объектами исследования являлись почвы и выращенные на них растения (овес, горох, салат, редис), Биопрепараты, разработанные в Томском государственном университете, являются экологически чистыми, нетоксичными, безопасными для человека и животных стимуляторами роста растений [Вайшла и др., 2007, Соколова и др., 2009].

Выращивание растений проведено на почвах, отобранных из техногенной зоны г. Свирска (Южное Прибайкалье). Почвы были взяты на различном удалении от основного источника загрязнения, бывшего Ангарского металлургического завода (АМЗ) по производству мышьяка, расположенного в черте города.

Загрязнение почв распространено не только на территории бывшего Ангарского завода по производству мышьяка, но и на большую часть города. В центральной части этой аномалии загрязнение грунтов и почв мышьяком, свинцом и другими тяжелыми металлами во много раз превышает ПДК.

Почвы для модельного эксперимента отобраны из гумусового горизонта «А». На условно фоновом участке 1, расположенном в 15 км от г. Свирска, почвы отобраны из пахотных горизонтов, на участке 2 – из садово-огородных почв (в 500 м от источника загрязнения) и на участках (3, 4) – в 100 и 10 м от АМЗ. На максимально загрязненном участке 4 гумусовый горизонт сформирован на техноземах, на участке 3 развиты карбонатно-дерновые почвы.

Каждая проба почв разделена на исходную (контроль) и обработанную биопрепаратами (опыт), на которых проведено выращивание растений в одинаковых условиях.

Растения не достигли зрелого состояния, так как на максимально загрязненных техногенных почвах, после 35 дней роста, они начали высыхать. Для анализа использовали растения, высушенные до воздушно сухого состояния. Из почв, на которых выросли растения, проведена экстракция тяжелых металлов, мышьяка и фосфора с помощью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) и изучены формы нахождения тяжелых металлов и мышьяка методом постадийных вытяжек. Выделены фракции почв: легкообменная, карбонатная, органическая, железо-марганцевая и остаточная трудно растворимая. Повышенные концентрации элементов по фракции ЭДТА указывают на возможность образования органических хелатных форм, большая часть из которых может быть доступна для аккумуляции в растениях и микроорганизмах.

Для определения массовой доли As, Pb, Cd в пробах использовали метод атомной абсорбции, для анализа растений – метод ISP-MS. Определение фосфора выполнено методом спектрофотометрии.

Максимально высокие валовые содержания As, Cd, Pb установлены в техногенных почвах вблизи отвалов мышьяка в десятки и сотни раз, превышающие ОДК. На удалении от источника загрязнения содержания их снижаются.

Несмотря на то, что при низких содержаниях в почве элементов-токсикантов, ризосферные бактерии способствуют незначительному накоплению их в растениях, в техногенных почвах прослеживается обратная закономерность. Так, по среднему содержанию химических элементов, рассчитанному для всех растений, установлено значительное снижение содержаний As, Cd, Pb в растениях, выращенных при влиянии ризосферных бактерий на максимально загрязненных почвах (рис., табл. 1).

Такое несоответствие в бионакоплении тяжелых металлов и мышьяка для фоновых и техногенных почв объясняется их формами нахождения в почве. Содержание этих элементов в растениях и почве имеют максимальную корреляцию с органической фракцией (ЭДТА), которая может играть ведущую роль в процессе миграции и бионакопления тяжелых металлов и мышьяка в растениях. Известно, чем ниже содержания тяжелых металлов, тем выше энергия их взаимодействия с органическими комплексами [Кабата-Пендиас и др., 1989]. В нашем эксперименте наблюдается такая же закономерность. В диапазоне низких содержаний тяжелых металлов на почвах фонового участка могут образовываться низкомолекулярные органические соединения виде подвижных хелатных форм, способные легко поступать в растения. В результате чего, в опытном эксперименте наблюдается увеличение концентрации тяжелых металлов и мышьяка в растениях, но только в диапазоне низких содержаний. Подобная тенденция была уста-

новлена нами ранее на примере корнеплодов, выращенных на обычных незагрязненных почвах [Белоголова и др., 2011].

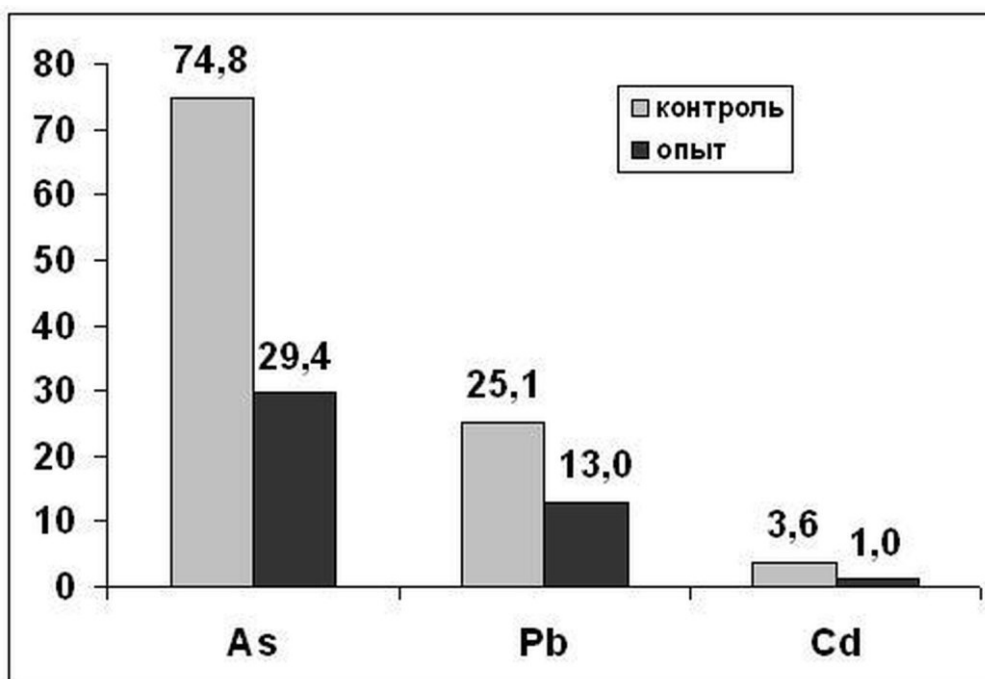


Рис. Среднее содержание (мг/кг сухого вещества) тяжелых металлов и мышьяка в растениях (пшеница, овес, горох, редис), выращенных на техногенных почвах в исходных (контроль) и с добавлением ризосферных бактерий (опыт).

Таблица 1

Содержание химических элементов в растениях (на сухое вещество, мг/кг), выращенных на техногенных и фоновых почвах

Растения	10 м от отвалов, участок 4				Фоновый участок 1			
	As	Pb	Cd	P%	As	Pb	Cd	P%
	контроль				контроль			
Салат	101	51,1	<b>9,3</b>	0,97	0,447	0,190	0,35	0,9
Редис	<b>79,7</b>	<b>25,3</b>	<b>3,01</b>	0,95	0,170	0,280	0,33	<b>1,6</b>
Горох	<b>18,7</b>	<b>5,04</b>	<b>1,11</b>	1,4	0,110	0,016	0,31	1,4
Горох корень	<b>110</b>	<b>27,7</b>	<b>6,18</b>	0,89	0,250	0,020	0,22	0,7
Овес	<b>19,2</b>	0,82	0,85	<b>2,2</b>	0,079	0,029	0,13	1,5
Овес корень	<b>120</b>	<b>40,6</b>	<b>1,44</b>	0,6	0,082	0,046	0,15	<b>1,0</b>
	опыт				опыт			
Салат	<b>109</b>	<b>62,1</b>	2,98	<b>1,0</b>	<b>0,740</b>	<b>0,261</b>	<b>0,38</b>	<b>1,4</b>
Редис	7,7	1,89	0,25	<b>1,8</b>	<b>0,830</b>	0,246	<b>0,51</b>	1,3
Горох	11,8	2,90	0,86	1,4	<b>1,12</b>	<b>0,067</b>	<b>0,61</b>	<b>1,5</b>
Горох корень	2,28	0,96	0,15	<b>1,0</b>	<b>0,78</b>	<b>0,052</b>	<b>0,67</b>	<b>1,5</b>
Овес	14,8	<b>1,71</b>	0,88	1,7	<b>0,67</b>	<b>0,049</b>	<b>0,23</b>	<b>1,8</b>
Овес корень	30,7	8,26	0,85	0,6	<b>0,7</b>	0,047	<b>0,23</b>	0,7

Примечание: контроль – исходная почва; опыт – почва с добавлением бактерий. Жирным шрифтом выделено повышенное содержание при сопоставлении контрольного и опытного экспериментов.

При высоких содержаниях тяжелых металлов в почве бактерии обладают способностью блокировать этот процесс, так как большое количество тяжелых металлов закрепляется в почве за счет ризобактерий (табл. 2).

Таблица 2

**Распределение содержаний As, Pb, Cd в исходной почве (контроль) и с добавлением бактерий (опыт) в зоне влияния АМЗ г. Свирска и на фоновом участке, мг/кг**

Характеристика проб	As		Pb		Cd		P
	Вал	ЭДТА	Вал	ЭДТА	Вал	ЭДТА	ЭДТА
Фоновый участок 1							
Контроль	30	2	<b>23</b>	<b>1,4</b>	0,25	0,10	<b>2190</b>
Опыт	30	2	18	1,2	0,3	<b>0,17</b>	2027
10 м Участок 4							
Контроль	3100	246	1260	74,9	5,1	1,7	3047
Опыт	2640	<b>443</b>	2100	<b>115,5</b>	4,7	<b>3,4</b>	<b>3234</b>
ОДК	10	–	32-130	–	0,5-2,0	–	–

*Примечание:* Участок 4 – 10 м от АМЗ. Жирным шрифтом выделено повышенное содержание элементов по фракции ЭДТА при сопоставлении контрольного и опытного эксперимента на одном участке. ОДК – ориентировочно допустимая концентрация.

В отличие от тяжелых металлов и мышьяка, для фосфора сохраняется общая тенденция накопления его в растениях под влиянием ризосферных бактерий в условиях различного загрязнения почв, где основную роль, по-видимому, играет фосфобактерин. Снижение концентраций фосфора в растениях в некоторых случаях может быть обусловлено межэлементным его взаимодействием с повышенными содержаниями тяжелых металлов и мышьяка в растениях.

Проведенные исследования позволили установить закономерности влияния ризосферных бактерий на мобилизацию и иммобилизацию тяжелых металлов и мышьяка в системе «почва – растение» в условиях техногенеза и выделить основные факторы, влияющие на их миграцию. Главное, установлена способность изученной группы ризосферных бактерий к биосорбции тяжелых металлов и мышьяка из загрязненных ими почв, что может иметь большое практическое значение при использовании новых биотехнологий в растениеводстве и для фиторемедиации почв.

Авторы выражают благодарность сотруднику Томского госуниверситета О. Б. Вайшла за предоставленную возможность исследования биопрепаратов.

*Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ № 12-05-00-257.*

#### Литература

Белоголова Г. А., Соколова М. Г., Пройдакова О. А. Влияние почвенных бактерий на поведение химических элементов в системе "почва-растение" // *Агрохимия*, 2011. – №9. – С. 89-97.

Вайшла О.Б., Ведерникова А.А., Бондаренко А.П. Микробиологические аспекты гипергенеза. – Томск: ТМЛ-Пресс, 2007. – 288 с.

Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. М.: Мир, 1989. – 439 с.

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

## БИОГЕОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ В ПРИРОДНЫХ И ТЕХНОГЕННЫХ ЛАНДШАФТАХ ПРИАНГАРЬЯ

О.Н. Гордеева, Г.А. Белоголова

Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, Иркутск, gordeeva@igc.irk.ru

Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами (ТМ) является одним из техногенных стрессовых факторов, влияющих на рост и развитие растений. В городских агломерациях такое загрязнение практически неизбежно из-за водного и атмосферного переноса поллютантов от различных источников. Растения по-разному реагируют на увеличение ТМ в среде произрастания. В случае накопления элементов-токсикантов в растительных организмах увеличивается возможность включения ТМ в пищевую цепь человека.

Исследование влияния высоких или повышенных содержаний ТМ в почвах на растения проводилось на территории Приангарья в пределах промышленных зон гг. Свирска и Усолье-Сибирское. Почвы, растения и грибы отбирались одновременно, с площадок 10 м<sup>2</sup>, сушились до воздушно-сухого состояния (грибы при температуре не выше 30° С) и без истирания анализировались методом атомной абсорбции.

Почвы, расположенные вблизи промышленной площадки недействующего Ангарского металлургического завода (АМЗ) по производству мышьяка (г. Свирск), характеризуются высокими концентрациями As, Cd, Pb, Hg, Cu, Zn и др. Расположенный рядом аккумуляторный завод является дополнительным источником ТМ. Установлено повсеместное загрязнение территории г. Свирска мышьяком, в количествах, превышающих ОДК. Повышенные относительно регионального фона содержания ТМ и As характерны и для почв окрестностей города [Гордеева и др., 2010].

На территории «Усольехимпрома» (г. Усолье-Сибирское) расположен законсервированный цех ртутного электролиза (ЦРЭ), где до 1998 г. в производстве соды и щелочи применяли Hg. В этой связи почвы усольской промзоны и окрестностей г. Усолье-Сибирского содержат значительные количества Hg. В пахотных почвах города концентрации Hg меньше, несмотря на относительно близкое (2–3 км) расположение «Усольехимпрома» к частному сектору города. Количество Hg в этих почвах повышено относительно регионального фона [Гордеева и др., 2012].

Поступление ТМ в растения в значительной степени зависит от содержания их в почвах в биодоступных формах, поэтому кроме валовых концентраций изучены различные формы нахождения ТМ и As по методике [Кузнецов, Шимко, 1990], Hg по методике [Bloom et al., 2003]. Среди полученных форм As, Cd, Pb, Cu и Zn наиболее важную роль играют их легкоподвижные, наиболее доступные для растений, соединения, экстрагируемые из почв слабыми растворителями (в данном случае 1 н CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>). Установлено, что подвижность всех изученных ТМ максимальна в загрязненных почвах (рН 4,6) в 5-10 м от промплощадки АМЗ, при удалении от которой подвижность металлов резко снижается. Количество As в легкорастворимых формах, напротив, увеличивается в этом направлении [Гордеева и др., 2010].

Высокие валовые содержания и повышенная относительно фона подвижность ТМ в загрязненных почвах свирского участка стала причиной накопления металлов и As в представителях изученных видов растений (надземная часть) – паслене сладко-горьком и кровохлебке аптечной. При этом паслен может быть отнесен к «безбарьерным» растениям, так как накапливает максимально высокие концентрации элементов-токсикантов без видимых признаков угнетения. Кровохлебка аккумулирует ТМ и As по типу «барьерных» растений. Тем не менее, концентрации As и Cd в кровохлебке, выросшей вблизи отвалов АМЗ на 1-3 порядка (Pb в 1,8 раза) выше, чем в лесных окрест-

ностях г. Свирска. Бионакопление необходимых элементов питания растений в условиях техногенного стресса, напротив, уменьшается (рис.).

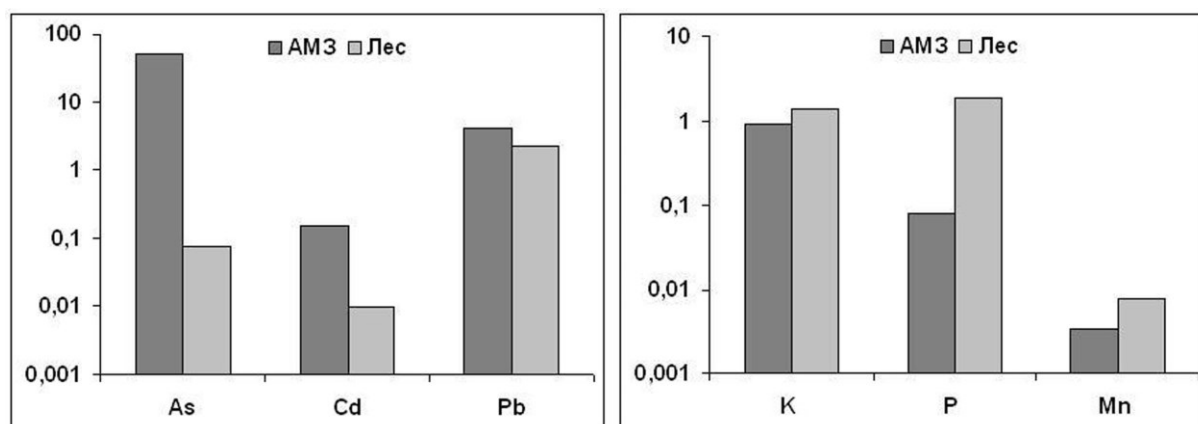


Рис. Средние содержания мышьяка, тяжелых металлов и необходимых элементов питания в кровохлебке аптечной, мг/кг.

Разные части растений неодинаково аккумулируют химические элементы. На примере паслена сладко-горького видно, что большей способностью к накоплению ТМ и As обладают листья и ветви, значительно меньшей – ягоды (табл.). По-видимому, в условиях загрязнения в растениях «включаются» механизмы защиты репродуктивных органов от чрезмерного поступления в них элементов-токсикантов.

Таблица

Содержание химических элементов в разных частях паслена сладко-горького (г. Свирск), мг/кг

Части растения	As	Pb	Cd	Cu	Zn	K	P
Ягоды	14,9	1,05	0,45	12,5	43	27000	3800
Верхние ветви	1400	98	7,5	69	400	6000	900
Нижние ветви	180	24	8,0	36	381	8800	1000
Листья	970	8,0	1,15	35	125	10000	2400
Кларк в растениях	0,3	0,1	0,01	2,0	3,0	3000	700

Для биофильных элементов K и P отмечена противоположная закономерность – содержания их в ягодах выше, чем в стеблях и листьях. Известно, что плоды и семена содержат белково-нуклеиновые комплексы, в образовании которых участвуют P и K. Данный факт – классический пример распределения жизненно важных элементов в органах растений.

Ртуть в почвах усольского участка находится преимущественно в органической (до 61 %) и прочносвязанной (до 83 %) формах; содержание ее в водо- и кислоторастворимой фракциях незначительно (до 2,3 %) [Гордеева и др., 2012]. По-видимому, именно Hg-органические соединения определяют миграцию Hg из почв в растения. На это указывает положительная корреляция между содержанием Hg в этой фракции и в травах, что не установлено для других ее фракций и валового содержания в почвах. Данный факт может быть причиной повышенных средних содержаний Hg в травах окрестностей города относительно трав «Усольехимпрома».

Бионакопление Hg, как и других ТМ, во многом определяется видовой принадлежностью растений. В наземной части некоторых трав усольского участка (тысячелистник – 0,161 мг/кг, герань – 0,132 мг/кг) содержания Hg выше естественного уровня (до 0,1 мг/кг [Кабата-Пендиас и др., 1989]). Распределение Hg по органам растений

также неравномерное – у березы основная ее часть концентрируется в тонкой (до 0,081 мг/кг) и одревесневшей (до 0,202 мг/кг) коре; в семенах и ветвях обнаружено минимальное ее содержание (до 0,025 мг/кг). Для трав (горошек мышиный, тысячелистник обыкновенный) характерно накопление Hg в листьях, что может быть обусловлено способностью листовых пластинок поглощать пары Hg из атмосферного воздуха и содержанием Hg в частицах пыли, а также перемещением Hg из одних органов растения в другие [Елпатьевский, 1993; Кабата-Пендиас и др., 1989]. Корни и корневища изученных трав содержали Hg меньше (иногда на порядок), чем листья.

Грибы можно отнести к организмам-аккумуляторам ТМ и As, т.к. вся поверхность мицелия всасывает растворенные в почве вещества, которые затем поступают в карпофоры [Елпатьевский, 1993]. Техногенное загрязнение приводит к многократному увеличению содержания ТМ в этих организмах. Так, средние содержания As в грибах г. Свирска составляли 3,2 мг/кг, на условно-фоновом участке (Усть-Ордынский округ) – 0,25 мг/кг, Pb – 1,33 и 0,26 мг/кг, соответственно. Интересным фактом является практически одинаковые средние концентрации Cd в грибах свирского и условно-фоновых участков – 0,63 и 0,64 мг/кг, соответственно. Для усольского участка характерно повышенное накопление грибами Hg. На территории «Усольехимпрома» ее концентрации в грибах – 0,137-5,4 мг/кг, в окрестностях г. Усолье-Сибирское – 0,341-0,70 мг/кг, в окрестностях г. Свирска – 0,011-0,53 мг/кг. Отмечено, что Hg накапливается несколько больше в шляпках грибов, чем в ножках. Концентрации ТМ в пластинчатых и трубчатых грибах отличаются незначительно. Средние содержания некоторых ТМ (Cd, Cu, Zn, Hg) в грибах выше, чем в почвах.

В пахотных почвах дачных участков г. Свирска, где выращивается плодоовощная продукция, содержание биодоступного As (9,5 мг/кг) повышено относительно фоновых (1,3 мг/кг) и сопоставимо с техногенными (7-10 мг/кг) почвами. В таких условиях прослеживается возрастание бионакопления As (как и ТМ) в свирских овощах (картофель, морковь) по сравнению с усольскими. Для овощей отмечено также увеличение концентраций всех изученных ТМ (иногда на порядок) в надземной части, например в ботве моркови по сравнению с ее корнеплодами.

Таким образом, техногенное загрязнение в значительной степени влияет на биогеохимические особенности накопления и распределения химических элементов в растениях и грибах. Увеличение поступления ТМ и As в травы сопровождается снижением поглощения необходимых элементов питания. В условиях загрязнения вегетативные органы растений выполняют защитную роль, поэтому чрезмерного накопления элементов-токсикантов в ягодах и семенах растений не наблюдается. Присутствие ТМ и As в почвах в биодоступных формах увеличивает возможность их поступления и накопления в растениях. Грибы, как организмы-концентраторы, в большей мере накапливают преобладающие для конкретной территории элементы-загрязнители.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №12-05-00-257-а.*

#### Литература

Гордеева О. Н., Белоголова Г. А., Гребенщикова В. И. Распределение и миграция тяжелых металлов и мышьяка в системе «почва-растение» в условиях г. Свирска (Южное Прибайкалье) // Проблемы региональной экологии, 2010. – №3. – С. 108-113.

Гордеева О.Н., Белоголова Г.А., Андрулайтис Л.Д. Биогеохимические особенности миграции ртути в системе «почва-растение» Южного Прибайкалья // Известия Иркутского государственного университета. Серия «Биология, экология», 2012. – №3. – Т.5. – С. 26-38.

Елпатьевский П. В. Геохимия миграционных потоков в природных и природно-техногенных геосистемах. – М.: Наука, 1993. – 253 с.



Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. – М.: Мир, 1989. – 440 с.

Кузнецов В.А., Шимко Г.А. Метод постадийных вытяжек при геохимических исследованиях. – Минск: Наука и техника, 1990. – 88 с.

Bloom N. S., Preus E., Katon J., Hiltner M. Selective extractions to biogeochemically relevant fractionation of inorganic mercury in sediment and soils // *Anal. Chim. Acta*, 2003. – V. 479. – N 2. – P. 233-248.

## СКОРОСТЬ РОСТА НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ТРУТОВЫХ ГРИБОВ ПРИ РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Т.Г. Горноста́й, М.С. Полякова, С.Н. Осипенко, Т.А. Пензина, Г.Б. Боровский

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, T.G.Gornostay@yandex.ru

Ксилотрофные базидиомицеты являются источниками биологически активных метаболитов, обладающих устойчивой антиоксидантной, антимикробной, противовирусной, иммунорегулирующей и другими активностями. В этой связи в последние десятилетия базидиомицеты становятся объектами целенаправленных исследований для поиска новых метаболитов, обладающих фармакологической ценностью [Jordan, 2004]. В Прибайкалье известно более 800 видов макромицетов [Петров, 2008] из различных экологических и систематических групп. Многие из них могут рассматриваться как источники биологически активных соединений, обладающие в том числе, выраженными антиоксидантными свойствами.

В этом отношении перспективными представляются следующие виды, способные к быстрому накоплению биомассы на различных средах и образующие крупные однолетние плодовые тела: *Hericium coralloides* (Fr.) Pers, встречается на валежных стволах березы, чозении, тополя душистого и пихты, плодоношение в июле-сентябре, является редким видом, занесен в Красную книгу РСФСР. *Hypsizygus ulmarius* (Bull.) Redhead, произрастает в лиственных и нарушенных хвойных лесах на пнях, сухостое и стволах живых берёз, в городских парках на вязах и кленах, плодоношение в августе-сентябре. *Inonotus rheades* (Pers.) Bondartsev & Singer, отмечен на валеже и сухостойных стволах осины, тополя душистого, плодоношение в августе – сентябре. Данные виды в Прибайкалье проявляют себя как мезофиллы, термотолеранты, обитают в ущельях, долинных и пойменных лесах горно-таежного и черневого высотно-поясных комплексов на всех хребтах Прибайкалья, встречаются повсеместно редко. По характеру разложения древесины эти виды относятся к грибам белой гнили.

Одно из направлений наших исследований - исследование закономерностей проявления антиоксидантной активности экстрактов из мицелия дереворазрушающих грибов. Начальным этапом в таком исследовании должно быть определение ростовых характеристик штамма и влияния субстратного и температурного фактора на скорость роста мицелия. Для данной работы были отобраны штаммы, указанных выше грибов, собранные в июле-августе 2012 года.

Ранее нами было установлено, что с понижением температуры культивирования, повышается антиоксидантная активность экстрактов некоторых дереворазрушающих грибов *Ganoderma applanatum*, *Lenzites betulinus*, *Irpex lacteus*, *Hericium coralloides* [Горноста́й и др., 2012]. Однако оптимальная скорость роста определена не была.

Для выращивания мицелия в контролируемых условиях использовались термостатированные камеры Binder. Для анализа температурного фактора были выбраны температуры, подходящие для активного роста мицелия (15, 20, 25 °C). В качестве среды

культивирования использовали сусло/агар.

Было обнаружено, что исследуемые виды активно росли при всех трех температурах (рис. 1). Максимальный рост мицелия наблюдали при температуре 20 °С.

Для анализа влияния субстратного фактора были выбраны несколько сред: среда на картофельном отваре, среда сусло/агар, среда с добавлением опилок древесины березы (*Betula pendula* Roth.) (3%) [Дудка, 1982]. Выращивание мицелия вели на данных средах при постоянной температуре 25 °С (рис. 2).

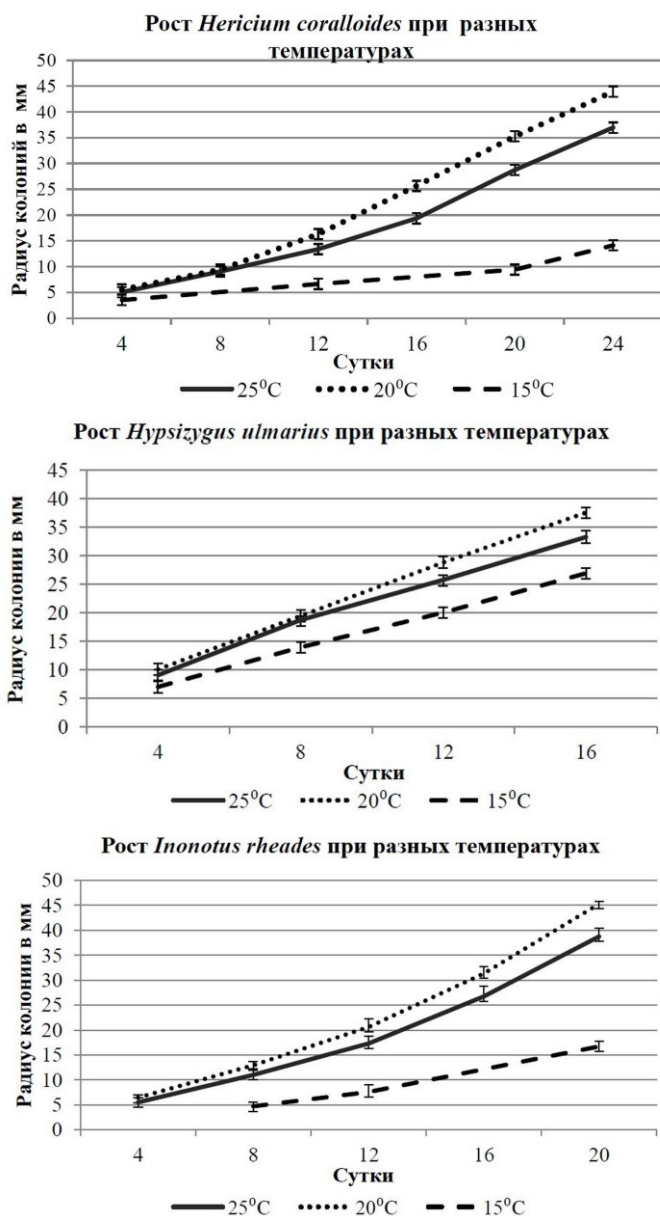


Рис 1. Ростové характеристики дереворазрушающих грибов при разных температурах культивирования. Мицелий высевали на среду сусло-агар в чашки Петри и выращивали в термостате при указанной температуре, периодически измеряя размер колонии. Представлены средние значения и стандартное отклонение. n=8.

Анализ данных показал, что наиболее оптимальной средой из исследованных для быстрого наращивания мицелия всех исследованных видов дереворазрушающих грибов является среда с 3% содержанием опилок березы. В литературных данных имеются сведения о влиянии состава среды культивирования *Inonotus obliquus* на антиоксидантную активность экзополисахаридов. При добавлении в среду культивирования лигноцеллюлозы из кукурузы наблюдали значительное увеличение антигидроксильной и антирадикальной активности по сравнению со стандартной средой [Yuling et al., 2012].

Полученные результаты позволят нам в дальнейшем оптимизировать наращива-

ние мицелия исследованных грибов. Следующим этапом нашей работы планируется определить антиоксидантную активность исследуемых видов дереворазрушающих грибов в зависимости от температурного и субстратного фактора.

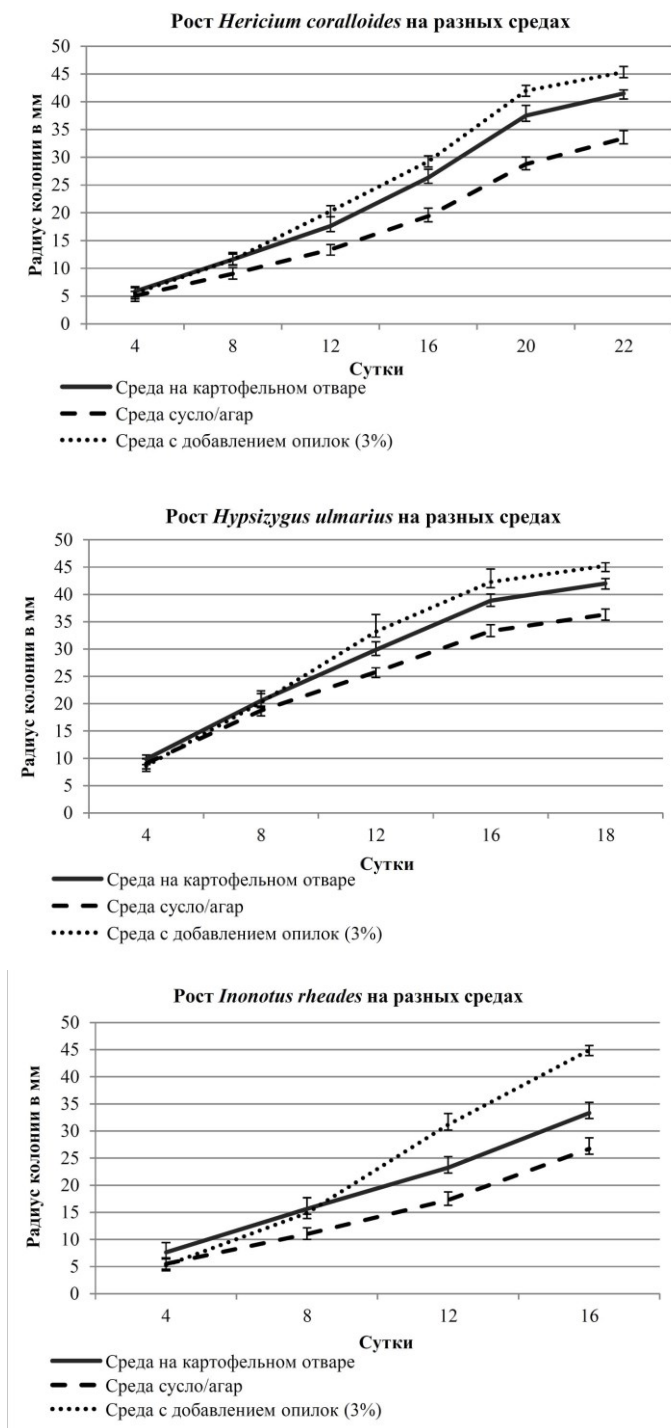


Рис 2. Ростовые характеристики дереворазрушающих грибов при культивировании на разных субстратах. Мицелий высевали на указанные среды в чашки Петри и выращивали в термостате при 25 °С, периодически измеряя размер колонии. Представлены средние значения и стандартное отклонение. n=8.

#### Литература

Горноста́й Т.Г., Полякова М.С., Осипенко С.Н., Пензина Т.А. Влияние температурного фактора на антирадикальную активность спиртовых и водных извлечений вегетативного мицелия ксилотрофных базидиомицетов // Прибайкалья Биотехнология в интересах экологии и экономики Сибири и Дальнего Востока, 2012. – 168 с.

Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А. и др. Методы экспериментальной микологии. Наука думка, 1982. – 549 с.

Петров А.Н. Макромицеты. Споровые растения Прибайкальского национального парка. Новосибирск: Гео, 2008. – 368 с.

Jordan K. Biologically active compounds from Aphyllophorales (Polypore) Fungi // J. Nat. Prod, 2004. –V.67. – P. 300–310.

Yuling Xiang, Xiangqun Xu, Juan Li Chemical properties and antioxidant activity of exopolysaccharides fractions from mycelial culture of Inonotus obliquus in a ground corn stover medium // Food Chemistry, 2012. – V.134– P. 1899–1905.

## ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ И СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ПАРКОВ Г. ИРКУТСКА

К.Г. Иванова<sup>1</sup>, А.В. Соколова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Иркутский государственный технический университет, Иркутск

<sup>2</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, asok12@mail.ru

Исследования ученых в области социологии, экологии и статистики показывают, что чем более развита страна в области экономики и культуры, тем больше жители этой страны озабочены вопросами установления связей человека с природой.

Одной из задач является изучение механизмов формирования природных островков и отслеживание изменений в садово-парковых насаждениях в контексте города. Рассмотрим это на примере исторических садов и парков г.Иркутска.

В целом, жизненный цикл зеленых городских структур, называемых «парк», «сквер», «сад» можно изобразить в виде следующей схемы (рис.1):

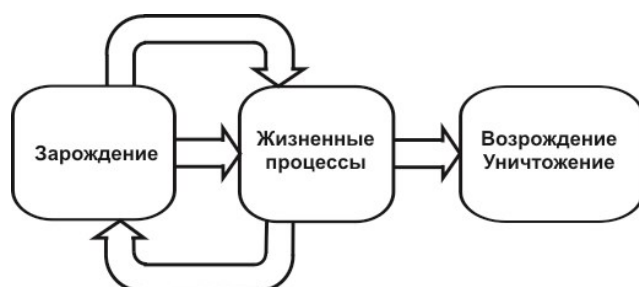


Рис.1

Первое звено «Зарождение» связано со вторым звеном «Жизненные процессы», происходящие в парках на период их востребованности. Затем парки трансформировались во что-то иное, или реконструировались или уничтожались.

Основные способы возникновения садов и парков и их сегодняшнее состояние насаждений следующие:

1. Первый вариант **стихийный**. Власти выделяли средства для благоустройства давно популярных мест отдыха в пригородном лесном массиве. Такие парки практически не требовали специальных посадок. На их территории сохранялись естественные насаждения.

### Процедура создания стихийного парка

**МЕСТО ОТДЫХА ► частые посещения ► БЛАГОУСТРОЙСТВО ► ПАРК**

Примером такого парка являлся «Интендантский» сад, разбитый властями в 1871 г в роще по берегам реки Ушаковки. Сад сохранял статус общегородского до 1920-х годов. С 1929 г. эта территория стала застраиваться производственными зданиями Завода тяжелого машиностроения. [А.К.Чернигов] В середине XX века на территории завода был разбит сквер, который инвесторы готовы вновь благоустроить. Растительность предоставлена такими породами как ель обыкновенная, вяз гладкий, вяз мелколистный, клен ясенелистный. Рябина сибирская, сосна сибирская встречаются единич-

но. Степень антропогенной нагрузки на парк средняя, Дорожно-тропиночная сеть занимает не менее 50%.

2. Второй вариант **вынужденный**. Создание парка или сквера было продиктовано необходимостью благоустройства публичного, широко посещаемого места, расположенного на пересечении важных городских направлений. При создании таких садов и парков производились специальные насаждения.

**Процедура создания вынужденного парка**

**УЗЛОВОЕ МЕСТО ► массовые посещения ► БЛАГОУСТРОЙСТВО ► ПАРК**

Первый городской парк возник в 1824 г. на месте бывшего острога на берегу Ангара. Пожар 1879 г. уничтожил его. В 1894 г. городской голова В. П. Сукачев пожертвовал 10 000 рублей на восстановление. Сад стал называться Сукачевский. Из воспоминаний старожилов: «Сукачевский сад славился массой сирени, качелями в виде лодок». [Тамм Л] Сегодня насаждения представлены в основном березой повислой, лиственницей сибирской, тополем, сиренью волосистой и обыкновенной, яблоней ягодной, грушей уссурийской, елью обыкновенной, кленом ясенелистным. Антропогенная нагрузка высокая, Дорожно-тропиночная сеть занимает не менее 70% .

3. Третий вариант – **коммерческий**. Частное владение, например дача, по инициативе владельца превращается в открытый для посещений платный сад.

**Процедура создания коммерческого парка**

**ЧАСТНОЕ ВЛАДЕНИЕ ► инициатива владельца ► БЛАГОУСТРОЙСТВО ► ПАРК**

На левом берегу р. Ангара, в лесном массиве, была большая дача (заимка) Титова. В 1862 г парк и местность получают название «Дача-Луна». Сегодня древесная растительность бывшей дачи представлена естественными насаждениями. Преобладающей породой является сосна обыкновенная. Лиственница сибирская, береза и тополь встречаются редко. Кустарниковый ярус представлен боярышником кроваво-красным, черемухой уединенной, розой иглистой. Степень антропогенной нагрузки на парк средняя, дорожно-тропиночная сеть занимает не менее 70% от территории. [Шергина О.В., Михайлова Т.М]

Сад в имении В.П.Сукачева кроме коммерческих целей нес еще и просветительские. Из воспоминаний Л.Тамм: «Сад при усадьбе Сукачева. В нем росли голубые ели, клены, акации, были два грота, ажурные мостики. По воскресеньям в сад горожан пускали бесплатно». [Тамм Л] Сегодня растительность парка представлена лиственницей сибирской, кленом ясенелистным, вязом мелколистным, тополем, бузиной красной. Ель обыкновенная и сосна обыкновенная встречаются единично. Степень антропогенной нагрузки на парк высокая, мезорельеф не нарушен. Дорожно-тропиночная сеть занимает не менее 50% от территории. Сохранились даже «реликтовые» посадки деревьев и кустарников, произведенные Сукачевым. [Асанин Р]

Четвертый вариант – **рациональный (нормативный)**. Власти города понимали, необходимость благоустроенной зона отдыха в селитебных и промышленных р-х города и выделял на благоустройство средства.

**Процедура создания нормативного парка**

**ПРИВЛЕКАТЕЛЬНОЕ МЕСТО ► инициатива властей ► БЛАГОУСТРОЙСТВО ► ПАРК**

В 1903 г. было решено воздвигнуть памятник императору Александру III строго на оси улицы Большой (ул. Карла Маркса). Рядом с памятником разбили Александровский сквер по проекту архитектора В.А.Рассушина. [А.К.Чернигов] Растительность бульвара представлена тополем, лиственницей обыкновенной, елью обыкновенной, березой повислой, сиренью, вязом мелколистным. Степень антропогенной нагрузки на

парк высокая, дорожно-тропиночная сеть занимает не менее 50% от территории.

**4. Еще один вариант создания парка – вариант народной стройки.**

Комсомольский парк в Иркутске II был создан по инициативе жителей поселка авиастроителей. Средств не выделялось, поэтому решено было создать парк своими силами. [Шепелев А] Древесная растительность естественного происхождения. Основной породой служит тополь. Береза, сосна обыкновенная и лиственница сибирская встречаются редко. Из кустарников можно перечислить карагану древовидную, яблоню, боярышник кроваво-красный, иву скрытную. Степень антропогенной нагрузки на парк средняя. Дорожно-тропиночная сеть занимает не менее 70% от территории. [Шергина О.В., Михайлова Т.М]

**Процедура создания народной стройки парка**

**МЕСТО ► инициатива населения ► БЛАГОУСТРОЙСТВО ► ПАРК**

**5. Шестой вариант – общественный.** Городские власти отводят участок какой-либо общественной организации, которая благоустраивает это место.

В 1893 состоялось открытие циклодрома от Общества велосипедистов на Кайской горе. Сегодня это место называется Парк Парижской Коммуны. [Дулов А] Растительность представлена в основном березой повислой, тополем и кленом ясенелистным. Сосна обыкновенная и лиственница сибирская малочисленны. Имеются такие кустарники как карагана древовидная, яблоня сибирская. Степень антропогенной нагрузки на парк средняя, мезорельеф не нарушен. Дорожно-тропиночная сеть занимает не менее 80% от парка. [Шергина О.В., Михайлова Т.М]

**Процедура создания общественного парка**

**Отвод участка общественной организации ► УЧАСТОК ► инициатива общественной организации ► БЛАГОУСТРОЙСТВО ► ПАРК**

**6. Седьмой вариант назовем вариант замещения.** По стечению исторических обстоятельств парк появляется на месте, предназначенном для других целей. например, на кладбище.

**Процедура создания варианта замещения парка**

**Окраина города становится центром ► КЛАДБИЩЕ ► инициатива властей ► БЛАГОУСТРОЙСТВО ► ПАРК (МЕМОРИАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС)**

В 1957 г Иерусалимское кладбище стало ЦПКиО, который был открыт для посетителей. Спустя почти 50 лет было принято решение о превращении ЦПКиО в мемориальный парк. [Асанин Р] Растительность представлена искусственными насаждениями. Основной породой является лиственница сибирская и тополь. Реже встречаются береза и сосна обыкновенная. Из кустарников отмечены боярышник кроваво-красный, бузина красная, таволга иволистная, черемуха уединенная, яблоня, роза иглистая. Отмечается сильные антропогенные изменения мезорельефа. Дорожно-тропиночная сеть занимает не менее 70%. [Шергина О.В., Михайлова Т.М]

Исходя из анализа данных территорий, можно сказать, что причина, инструменты создания и тип происхождения парка, а также дальнейшее содержание влияет на его планировочную структуру, экологическое состояние и жизнеспособность. Состояние городских озелененных территорий угнетенное. Необходимо разрабатывать рекомендации для поддержания и улучшения состояния парков и скверов.

**Литература**

- Асанин Р. История Иерусалимской горы // Областная газета. – 2010. – №140. – С. 6.  
Асанин Р. Усадьба В.П.Сукачева // Областная газета. – 2010. – №89 – С. 8.  
Дулов А. Иркутская летопись // Сибирь. – 1989. – № 4. – С. 44.  
Иркутские повествования. 1661-1917 годы. В 2 т. / Автор – составитель А.К.Чернигов. Иркутск: «Оттиск», 2003. Т.1. – 464 с.

- Тамм Л. Записки Иркутянки // Земля Иркутская. – 2001. – №15. – С. 67.
- Шепелев А. Парк строили комсомольцы // Иркутский авиастроитель
- Шергина О.В., Михайлова Т.М. Состояние древесных растений и почвенного покрова парковых и лесопарковых зон г. Иркутска. – Иркутск: Изд-во Института географии СО РАН, 2007. – 200с.

## **ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ТЕХНОГЕННОЙ ДИГРЕССИИ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ БАЙКАЛЬСКОГО РЕГИОНА**

Т.А. Михайлова

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, mikh@sifibr.irk.ru

Негативное воздействие атмосферного промышленного загрязнения на леса чаще всего рассматривается как развитие патологического процесса, имеющего несколько стадий – латентную, визуального поражения и в конечном итоге – разрушения лесной экосистемы. Этот известный алгоритм техногенной дигрессии многократно описан для лесов вблизи крупных промышленных центров (Норильск, Братск, Североникель и др.). Вместе с тем, как показывают наши многолетние исследования, помимо острого интенсивно развивающегося процесса, на обширных территориях лесные экосистемы подвергаются влиянию хронического техногенного загрязнения с отсроченным проявлением признаков угнетения. Однако, как при сильном, так и умеренном и слабом воздействии загрязнения происходит нарушение основы функционирования экосистемы – биогеохимических циклов элементов питания за счет нерегулируемого привноса вещества с выбросами. Соответственно, дисбаланс элементов питания приводит к нарушению продукционных процессов и повреждению растений. Многие исследователи констатируют, что появился новый тип миграции химических элементов – техногенный, который по объему, скорости и интенсивности стал превышать их природное поступление. При этом на импактных территориях поллютанты, как правило, выступают доминирующим фактором, определяющим состояние биоценозов.

Нами исследовалось состояние лесных экосистем фоновых и техногенно загрязняемых территорий Байкальского региона по комплексу параметров древостоя и почвы. В данном сообщении рассматриваются параметры, отражающие изменение биогеохимической миграции элементов питания и элементов-поллютантов в фитоценозе (древостое) и горизонтах почвенного профиля.

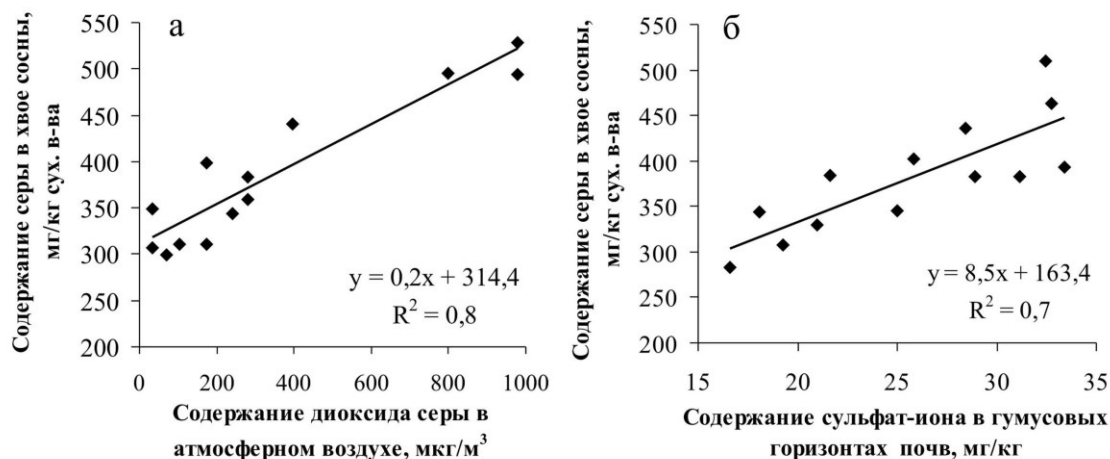
При картографической оценке загрязнения лесов региона показано, что высокий его уровень регистрируется вблизи промышленных центров и на прилегающих к ним территориях, средний уровень наблюдается на некотором удалении от промцентров и часто обусловлен перекрыванием их выбросов, слабое загрязнение распространено на обширных территориях, поскольку оно вызвано не только региональными выбросами, но и межрегиональным переносом эмиссий [Михайлова, Плешанов, Афанасьева, 2008].

Однако, нельзя говорить о полном соответствии между уровнем загрязнения лесных экосистем и степенью их дигрессии, то есть о прямой корреляции этих процессов. Эта связь сложнее, поскольку на нее влияет целый ряд факторов, в том числе: географические и лесорастительные условия, определенная степень устойчивости экосистем, наличие инерционности в состоянии экосистемы и ее компонентов как при повышении, так и при снижении эмиссионной нагрузки [Михайлова, Бережная, 2002]. Так, начальная стадия техногенной дигрессии в разных районах региона проявляется при неодинаковом уровне атмосферного загрязнения, он самый высокий в Южном Предбайкалье и самый низкий в Северном Прибайкалье. Вместе с тем, наименьшие нарушения в соот-

ношениях элементов-биофилов обнаруживаются в хвое сосны из Южного Предбайкалья, в Забайкалье нарушения более выражены, в Северном Прибайкалье они наибольшие. Соответственно, в этом районе наблюдаются и более низкие значения ряда показателей состояния ассимилирующей фитомассы, а в целом можно говорить о меньшем потенциале физиологической устойчивости древостоев северной части региона [Mikhailova et al., 2010]. Хотя общее содержание биогенных элементов в хвое на фоновых территориях этих районов почти не отличается и составляет, соответственно, 2,74, 2,75 и 2,62 % от сух. в-ва, но по количественным значениям отдельных элементов между Северным Прибайкальем и южными районами наблюдаются существенные различия. Результаты прогнозирования свидетельствуют, что тренд к сильному ухудшению состояния лесов севера проявится уже при увеличении объемов выбросов в 2 раза. В южных частях региона при сходном объеме эмиссий не наблюдается видимых признаков ухудшения состояния лесных экосистем. Отсюда следует, что Северное Прибайкалье относится к территориям, особо чувствительным для техногенного загрязнения.

Для Южного Предбайкалья обнаружено, что на начальной стадии дигрессии, вызванной влиянием атмосферного загрязнения, выявляется несколько повышенный уровень элементов-поллютантов и снижение доли некоторых элементов-биофилов в ассимилирующей фитомассе древостоя, в то время как в органической подстилке и верхних горизонтах почвенного профиля такие изменения могут не наблюдаться. Показана более высокая буферная способность и устойчивость почвы к воздействию техногенного загрязнения в сравнении с фитоценозом [Шергина, Михайлова, 2007]. Это говорит о том, что на начальной стадии техногенной дигрессии нарушение питательного статуса древесных растений происходит в основном за счет аэральюного поглощения ими элементов-поллютантов. На это указывает и отсутствие значимых корреляций между содержанием этих элементов в растениях и почве.

При усилении техногенной дигрессии нарушение питательного статуса древостоев прогрессирует в том числе и вследствие негативной роли загрязненной почвы. Так, в лесных экосистемах на импактных территориях выражены такие процессы, как значительная аккумуляция элементов-поллютантов в древостое и почвенных горизонтах, дисбаланс элементов-биофилов в ассимилирующей фитомассе и почвенном поглощающем комплексе, высокая миграционная способность элементов-загрязнителей в системе почвенного профиля и их активное поступление в ассимиляционные органы древесных растений из гумусово-аккумулятивных и минеральных горизонтов загрязненных почв вследствие чего уровни аэральюного и почвенного загрязнения древостоев становятся сопоставимыми (рис. 1).



**Рис. 1. Накопление серы в ассимиляционных органах сосны обыкновенной при аэральюном (а) и почвенном (б) загрязнении серосодержащими поллютантами.**



Одним из значимых факторов, определяющих биогеохимическую миграцию элементов, является кислотность среды [Михайлова, Шергина, 2011]. Ее изменения влияют как на физико-химические свойства почв, так и на химическую активность элементов в растительном организме. При исследовании актуальной кислотности в компонентах системы почва-растение выявлен общий тренд к ее снижению при усилении техногенной нагрузки. Этот тренд обнаруживается для гомогенатов хвои, листьев, коры древесных растений, надземной части травянистых растений, корневой биомассы и почвенных суспензий из горизонтов почвенного профиля (табл. 1). Вместе с тем, на ряде загрязненных территорий кислотно-основной баланс может сдвигаться в сторону подкисления, например, вблизи алюминиевого завода.

Таблица 1

**Изменение актуальной кислотности в системе почва-растение в лесных экосистемах фоновых и загрязненных территорий**

Объекты исследования	Территория техногенного загрязнения	Фоновая территория
Хвоя сосны	4,72	4,48
Кора сосны	3,95	3,50
Надземная часть травянистых растений	6,35	5,35
Корни разнотравья (корневая биомасса)	6,50	5,54
Органическая подстилка	6,93	5,78
Гумусово-аккумулятивный почвенный горизонт	6,82	5,21

В лесных экосистемах Забайкалья биогеохимические нарушения наиболее выражены вблизи Улан-Удэнского, Нижнеселенгинского и Гусиноозерского промузлов и вызваны главным образом воздействием серосодержащих соединений и тяжелых металлов. В целом, в настоящее время в Байкальском регионе преобладают лесные экосистемы слабой и умеренной степени дигрессии, сильная техногенная дигрессия выявляется на территориях крупных промцентров.

*Исследования выполнялись при частичной финансовой поддержке междисциплинарного интеграционного проекта СО РАН № 17.*

Литература

- Михайлова Т.А., Бережная Н.С. Динамика состояния сосновых лесов при изменениях эмиссионной нагрузки // Сиб. экол. журн. – 2002. – № 1. – С. 113-120.
- Михайлова Т.А., Плешанов А.С., Афанасьева Л.В. Картографическая оценка загрязнения лесных экосистем Байкальской природной территории техногенными эмиссиями // География и природ. ресурсы. – 2008. – №4. – С. 18-23.
- Михайлова Т.А., Шергина О.В. Питательный статус древесных растений как интегральный показатель состояния урбоэкосистемы // Изв. ИГУ. Сер. Биология. Экология. – 2011. – Т. 4, № 2. – С. 66-73.
- Шергина О.В., Михайлова Т.А. Состояние древесных растений и почвенного покрова парковых и лесопарковых зон г. Иркутска / Иркутск: Изд-во Ин-та географии СО РАН, 2007. – 200 с.
- Mikhailova T.A., Kalugina O.V., Afanasieva L.V., Nesterenko O.I. Trends of Chemical Element Content in Needles of Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) under Various Natural Conditions and Emission Load // Contemporary Problems of Ecology. – 2010. – V. 3, N. 2. – pp. 173-179.

## БИОРАЗНООБРАЗИЕ ЛИШАЙНИКОВ КАК ИНДИКАЦИОННЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ СОСТОЯНИЯ НЕКОТОРЫХ УЧАСТКОВ ДУБРАВ В МОСКВЕ

Е.Э. Мучник, Н.Ю. Кулакова

Институт лесоведения РАН, с. Успенское, Московская обл., eugenia@lichenfield.com

На 4-х модельных участках московских городских дубрав при комплексном обследовании были выявлены различные сочетания антропогенных факторов, влияющих на состояние лесных или лесопарковых ценозов [Мучник и др., 2013]: 1) пробная площадь (ПП) 1, на юге природно-исторического парка «Измайлово», N55° 46' E37° 48' на расстоянии до 50 м от шоссе Энтузиастов – влияние крупной автотрассы и средняя рекреация; 2) ПП 2, на расстоянии более 100 м от этого же шоссе, в Терлецком лесопарке – сильная рекреация; 3) ПП 3, в Серебряноборском опытном лесничестве вблизи ул. Осенняя, N55° 45' E37° 23' на расстоянии до 50 м от Рублевского шоссе – влияние крупной автотрассы, вырубка опушки и слабая рекреация; 4) ПП 4, на расстоянии более 100 м от этого же шоссе, внутри лесного массива – очень слабая рекреация. Проведенный анализ поступления в почву загрязняющих веществ (по содержанию их в талой воде, полученной из проб снега) позволил расположить пробные площадки по мере уменьшения загрязнения в следующем порядке: ПП 3 > ПП 1 > ПП 4 > ПП 2. Из обследованных компонентов биоты видовое разнообразие эпифитных лишайников наилучшим образом коррелировало с концентрациями загрязняющих веществ. Для выявления индикационных свойств, непосредственно, эпифитных лишайников дуба черешчатого на пробных площадках были проведены исследования кислотности корки (рН) деревьев дуба, кислотно-щелочного баланса почвы и содержания в ней тяжелых металлов.

На каждой пробной площадке с 10 деревьев дуба в прикомлевом (на уровне около 0,5 м) и стволовом (на уровне 1,5 м) горизонтах были отобраны пробы корки толщиной 0,5 – 0,8 мм. Пробы высушены в течение 24 ч при 105 °С, гомогенизированы, сделаны навески в 1 г и разведены дистиллированной водой в пропорции 1 : 25. Полученную суспензию выдерживали в течение 24 ч, периодически взбалтывая. Измерения выполняли на рН-метре-иономере «Эксперт-001» с электродами ЭСК-10601/7. На этом же приборе согласно стандартным методикам измеряли рН водной суспензии почвы (разбавление 1:5). Анализ водной вытяжки из почвы проводили общепринятыми методами [Воробьева, 1998]. Содержание тяжелых металлов в почве определяли атомно-абсорбционным методом.

Для городских почв одним из диагностических признаков является сдвиг реакции среды в сторону щелочных значений, что связано с поступлением щелочной пыли, содержащей карбонаты Са и Mg (в том числе, от автотрасс), с применением противогололедных реагентов в зимний период и нек. др. факторами [Доклад..., 2012]. Анализ водной вытяжки из почвы придорожной зоны (менее 20 м от автотрасс) и почвы участков, удаленных от автотрасс более чем на 100 м, показал, что ионы  $SO_4^{2-}$ ,  $Cl^-$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , источником которых может служить автотранспорт, вымываются из почвы. В исследуемых почвах отмечается только повышенное содержание иона  $HCO_3^-$ , несвойственное дерново-подзолистым почвам и обуславливающее увеличение общей щелочности почвы. Значения содержания этого иона на отдаленных от автодорог участках составляет около 0,15 мг экв/100 г почвы в верхней части профиля (0–30 см). На участках у автомагистралей содержание  $HCO_3^-$  иона было существенно выше и изменялось от 1,05 до 0,45 мг экв/100 г почвы в верхних 10 см, от 0,5 до 0,15 мг экв/100 г почвы на глубине 10–20 см и от 0,25 до 0,15 мг экв/100 г почвы на глубине 20–30 см. Выявлено, что почвы участков, расположенных на расстоянии менее 20 м от магистралей, имеют значения рН водной суспензии достоверно более высокие, чем почвы, удаленные от дороги

более чем на 100 м (табл. 1). Наиболее высокие значения свойственны самым верхним слоям гумусового горизонта, что связано с поступлением поллютантов на поверхность почвы. Вниз по профилю значения рН в придорожных почвах снижаются, но остаются выше, чем на отдаленных от автотрасс участках.

Таблица 1

**Значения рН водной суспензии почвы при соотношении почва : вода 1 : 5**

Глубина, см	Модельные объекты			
	«Измайлово»		«Серебряный бор»	
	ПП 1	ПП 2	ПП 3	ПП 4
0–10	6,85±0,04	5,86±0,03	6,88±0,15	6,02±0,10
10–20	6,80±0,09	5,72±0,05	6,75±0,06	5,78±0,12
20–30	6,63±0,17	5,49±0,07	6,51±0,10	5,62±0,08

Значения рН почвенной среды оказывают влияние на интенсивность миграции по почвенному профилю тяжелых металлов. Нейтральная среда верхних горизонтов придорожных почв способствует аккумуляции в них тяжёлых металлов [Шилкова, 2003], в частности, свинца и цинка. На исследуемых площадках содержание свинца не превышало ориентировочно допустимых значений (ОДК свинца согласно нормативам [Гигиенические..., 2006] составляет 32 мг/кг), варьируя от 22,3–26,2 мг/100г почвы в подстилке и гумусовом горизонте (0–10,10–20 см) придорожных площадок до 15–16 мг/100г в подстилке и почве участков, удаленных от автотрассы более чем на 100 м.

Показатели загрязнения цинком на придорожных площадках превышают значения ОДК для Zn – 55 мг/кг. Цинк накапливается в лесной подстилке, его концентрация на площадках, расположенных ближе к автотрассам составляет 84,2–95,6 мг/100 г почвы, а в гумусовом горизонте снижается до 61,5–46,9. Концентрация Zn на участках, удаленных от трассы не превышает 44,1 мг Zn на кг почвы и, как правило, убывает от подстилки к нижней части гумусового горизонта.

Значения рН почвенной среды, в какой-то мере, обуславливают и значения рН корки деревьев. Для средней полосы европейской части России рН корки дуба черешчатого в фоновых условиях составляют 4,3 – 4,5 [Инсарова, Инсаров, 1989]. При таких значениях рН корки в эпифитном лишайниковом покрове (ЭЛП) дуба преобладают виды группы ацидофитов. Однако загрязнение воздуха соединениями азота вызывает защелачивание и, таким образом, эвтрофикацию корки, способствуя росту нетипичных для нее видов-нитрофитов [van Herk и др.]. На обследованных пробных площадях в ЭЛП дуба выявлены 12 видов (табл. 2), среди которых нитрофитов, в целом, больше, чем ярко выраженных ацидофитов.

Хотя основным источником соединений азота в Москве являются автотранспортные загрязнения [Доклад..., 2012], в лесопарковых сообществах довольно заметный вклад в эвтрофикацию корки форофитов вносит и рекреация (в частности, выгул собак и, возможно, внесение органических удобрений). Это прослеживается в изменениях разницы значений рН корки в прикорневом (к) и стволовом (с) горизонтах форофитов. На придорожных пробных площадках соотношения значения рН<sub>ср.</sub> (к) и рН<sub>ср.</sub> (с) составляют 4,98±0,16 и 4,77±0,13 на ПП 1; 4,94±0,22 и 4,88±0,25 на ПП 3. Наиболее велика разница между обсуждаемыми параметрами на ПП 2, подверженной сильной рекреации, рН<sub>ср.</sub> (к) 4,88±0,10 и рН<sub>ср.</sub> (с) 4,54±0,22; в то время как на ПП 4, в условиях очень слабой рекреации, рН<sub>ср.</sub> (к) и рН<sub>ср.</sub> (с), фактически, не отличаются, составляя, соответственно, 4,54±0,14 и 4,54±0,16. Отметим, что именно на ПП 4 в ЭЛП дуба отсутствуют явные нитрофиты. Таким образом, видовое разнообразие эпифитных лишайников на модельных объектах можно рассматривать не только как показатель общего уровня за-

грязнения, но и также в качестве показателя загрязнения соединениями азота.

**Таблица 2**

**Видовой состав эпифитных лишайников дуба черешчатого на модельных объектах**

№ №	Вид лишайника и экологическая группа по отношению к кислотности субстрата <sup>1</sup>	Модельные объекты (рН ср. корки дуба)			
		«Измайлово»		«Серебряный бор»	
		ПП 1 (4,88±0,11)	ПП 2 (4,71±0,14)	ПП 3 (4,91±0,16)	ПП 4 (4,52±0,10)
1.	<i>Candelariella xanthostigma</i> (N)		+		
2.	<i>Cladonia coniocraea</i> (A <sub>1</sub> )	+		+	
3.	<i>Hypogymnia physodes</i> (A)		+		+
4.	<i>Lecanora albellula</i>		+		
5.	<i>Lepraria elobata</i>	+	+		+
6.	<i>L. incana</i> (A)				+
7.	<i>Micarea sp.</i>		+		
8.	<i>Parmelia sulcata</i> (ND)				+
9.	<i>Phaeophyscia nigricans</i> (N)		+		
10.	<i>P. orbicularis</i> (N)		+		
11.	<i>Physcia adscendens</i> (N)		+		
12.	<i>Physcia tribacia</i> (N)		+		
Итого:		2	9	1	4

<sup>1</sup>Примечание: экологические группы по отношению к кислотности субстрата даны согласно сводной таблице [Инсаров и др., 2010 с дополнениями] А – ацидофитный вид, А<sub>1</sub> – вид, приуроченный, в основном, к кислому субстрату, но не являющийся отчетливо выраженным ацидофитом, N – нитрофитный вид, ND – вид с неопределенным статусом, отсутствие обозначения – нет информации.

*При поддержке Программы Президиума РАН «Биологические ресурсы России», РФФИ (грант 12-04-01347) и Программы Президента РФ для государственной поддержки ведущей научной школы НШ-2807.2012.4.*

#### Литература

- Воробьева Л.А. Химический анализ почв. – М.: МГУ, 1988. – 272 с.
- Гигиенический норматив ГН 2.1.7. 2042-06 Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве. – М. 2006.
- Доклад о состоянии окружающей среды в городе Москве в 2011 году / под общ. ред. А. О. Кульбачевского. – М.: Спецкнига, 2012. – 150 с.
- Инсаров Г.Э., Инсарова И.Д. Сравнительные оценки чувствительности эпифитных лишайников различных видов к загрязнению воздуха // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. – Т. 12. – Л.: Гидрометеиздат, 1989. – С. 113–175.
- Инсаров Г.Э., Мучник Е.Э., Инсарова И.Д. Эпифитные лишайники в условиях загрязнения атмосферы Москвы: методология долговременного мониторинга // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. – Т. 23. – Москва: ИГКЭ, 2010. – С. 277–296
- Мучник Е.Э., Каплина Н.Ф., Кулакова Н.Ю., Селочник Н.Н., Ермолова Л.С. Опыт комплексной оценки состояния московских дубрав // Биодиагностика в экологической оценке почв и сопредельных сред. Тезисы докладов международной конференции. Москва, 4 – 6 февраля 2013 г. – Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. – С. 150.
- Шилкова О.С. Трансформация почв территорий, прилегающих к автомагистралям // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал), 2003. – Вып. 9. – 85–86.
- Van Herk С.М. Epiphytes on wayside trees as an indicator of eutrophication in the

## **АНАЛИЗ ХАРАКТЕРИСТИК ДРЕВОСТОЕВ, ПРОЙДЕННЫХ ВЫБОРОЧНЫМИ РУБКАМИ, УКАЗЫВАЮЩИХ НА ИХ УСТОЙЧИВОСТЬ ПРИРОДНЫМ НАРУШЕНИЯМ**

Е.М. Огородников

ФГБУН ГПЗ «Уссурийский» им. В.Л.Комарова ДВО РАН, Уссурийск, evgog@rambler.ru

Нарушения в лесах ведут к существенным экономическим убыткам. Изучение факторов, влияющих на устойчивость, поможет выработать меры для снижения экономических потерь. Отмечается, что глобальные изменения климата могут привести к существенному увеличению частоты и силы факторов, обуславливающих природные нарушения. Поэтому, изменение технологии назначения деревьев в рубку, является актуальным вопросом в лесном хозяйстве.

Большинство исследований природных нарушений ведутся в лесах, пройденных сплошными рубками и рубками ухода, в течение нескольких лет после их осуществления, лесных культурах, вторичных лесах. Но результаты лесохозяйственных мероприятий трудно оценить в краткосрочный период [Papaik et. al, 2005]. Вопрос о влиянии рубок главного пользования на устойчивость лесов в долгосрочный период, по сравнению с лесами, в которых хозяйственная деятельность не осуществлялась, остается невыясненным. Лесные экосистемы Уссурийского заповедника, расположенного на юге Приморского края, включают в себя естественно развивающиеся и бывшие в эксплуатации леса маньчжурского типа, представляющие собой комплекс разнообразных объектов для изучения влияния природных нарушений. Цель данной работы – анализ характеристик древостоев, пройденных рубками, указывающих на их устойчивость.

С 1900 по 1933 г. в части заповедника бывшей в эксплуатации проводились бессистемные приисковые рубки. Здоровые крупные деревья кедра корейского и ели аянской заготавливались преимущественно в наиболее выгодных в транспортном отношении урочищах. После 1933 г. стала производиться лишь частичная вырубка фауна и перестоя в местах доступных для эксплуатации, а также выборочные рубки слабой интенсивности направленные на ель и пихту и с 1941 г. санитарные рубки. Это было неприемлемо для большинства лесозаготовителей. Поэтому с 1951 по 1964 г. было пройдено рубками не более 20-25% территории бывшего в эксплуатации лесничества. А с 1965 по 1970 г. в ходе санитарных рубок было заготовлено немногим более 90 тыс. м<sup>3</sup> древесины (интенсивность от 20 до 240 м<sup>3</sup>·га<sup>-1</sup>). В 1972 г. эта территория получила заповедный статус.

Согласно проведенной в 1949 г. научно-исследовательской работе по определению масштабов усыхания елово-пихтовых с кедром корейским и елово-пихтовых лесов установили, что усыханием особенно сильно охвачены леса с преобладанием ели аянской и пихты белокорой, расположенные в труднодоступных для эксплуатации местах. Основными причинами усыхания были названы: перестойность (при этом усыхали сначала наиболее крупные деревья), периодические засухи (в ходе них преимущественно погибали деревья до 25 см в диаметре), длительные переувлажнения почв атмосферными осадками, заболоченность и поражение корневых систем и стволов дереворазрушающими грибами. Тем не менее, сильные ветра и повреждения снегом не были указаны как одни из основных факторов, провоцирующих массовое усыхание прежде всего деревьев хвойных пород.

Бывшие в эксплуатации леса на высоком уровне значимости отличаются от естественно развивающихся по многим таксационным параметрам (возраст, средний диаметр, средняя высота, бонитет). Но имеют значительное сходство, значимые низкие (до 20% от величины выборки) или случайные различия по запасу (табл. 1). Отмечается, что уменьшение отпада, а следовательно увеличение запаса, в пройденных рубками лесах происходит вследствие снижения конкуренции [Marage et. al, 2005] и развития корневых систем.

Таблица 1

**Сравнение пройденных рубками и естественно развивающихся лесов по запасу I и II полога, сгруппированных по формациям, с использованием теста Манна-Уитни**

Формация	КЕ Э В	ЕК Э В	ЕП Э В	КЕ Э	ЕК Э
	значение Z I полог				
	значение Z II полог				
КЕ НЭ В	$\frac{+0,82030^*}{+0,92676^*}$				
ЕК НЭ В		$\frac{+3,70469^{***}}{+0,39717^*}$			
ЕП НЭ В			$\frac{+4,10258^{***}}{+1,64606^{**}}$		
КЕ НЭ				$\frac{+0,68710^*}{-4,59980^{***}}$	
ЕК НЭ					$\frac{+0,40500^*}{+1,69697^{**}}$

Примечание: КЕ – кедрово-еловая формация, ЕК – елово-кедровая формация, ЕП – елово-пихтовая формация, НЭ – леса не эксплуатировавшегося лесничества, Э – леса бывшие в эксплуатации, В – поврежденные ветровалом 1981 г.

\*\*\* –  $p < 0,001$ ; \*\* –  $p > 0,05$ ; \* –  $p > 0,50$

Леса елово-кедровой и кедрово-еловой формаций, пройденные выборочными рубками, по сравнению с естественно развивающимися, имеют более развитый второстепенный полог, что свидетельствует о повышении устойчивости этих насаждений к более широкому спектру природных нарушений.

Вероятно, что в течение первых нескольких лет после рубок существует высокая вероятность ветровала. В дальнейшем деревья адаптируются к новым условиям, что повышает их устойчивость [Laiho, 1987]. Естественно развивающиеся леса имеют схожее распределение запасов лесообразующего полога и характеризуются перестойностью. Вероятно, что они более уязвимы при нарушениях средней и высокой интенсивности, в особенности от ветровых нагрузок [Захаров и Суховольский, 2004].

Ущерб от ветровалов в насаждениях, где лесообразователями выступает ель аянская и пихта белокорая всегда находится на высоком уровне, достигая максимума на вершинах хребтов. Но доля отпада в ходе ветровала и в течение нескольких лет после него в пройденных рубками лесах, даже без учета изъятой в ходе рубок древесины, менее значительна по сравнению с не эксплуатировавшимися лесами [Macisaac and Krygier, 2009].

Необходимо отметить положительную роль выборочных рубок главного пользования и санитарных рубок в улучшении санитарного состояния лесов (табл. 2). Выборка перестойных, зараженных грибами, больных и ослабленных деревьев на многие десятки лет улучшает их состояние, повышая устойчивость лесов от вспышек размножения насекомых вредителей, распространения дереворазрушающих грибов.

Низкий запас сухостоя в бывших в эксплуатации лесах свидетельствует о уменьшении усыхания деревьев от засух, заболеваний, повреждений корневой системы.

Уменьшению усыхания может способствовать и омоложение древостоев.

Таблица 2

Распределение лесов с участием ели аянской по санитарному состоянию

Формация	Класс санитарного состояния (доля классов, %)			
	0	1	2	3
КЕ НЭВ	1,0	78,9	15,1	5,0
ЕК НЭВ	1,5	92,6	5,1	0,7
ЕП НЭВ	5,4	86,4	6,9	1,2
КЕ НЭ	3,5	65,3	31,2	-
ЕК НЭ	1,0	82,5	16,5	-
ЕП НЭ	2,1	67,7	30,2	-
КЕ ЭВ	55,2	44,4	0,4	-
ЕК ЭВ	4,1	95,6	0,3	-
ЕП ЭВ	7,5	91,2	1,3	-
КЕ Э	0,9	94,7	2,9	1,5
ЕК Э	-	95,5	3,2	1,3
ЕП Э	0,8	96,5	2,0	0,7

Несомненно, что проведение выборочных рубок слабой интенсивности благоприятно влияет на устойчивость лесов, образованных с участием ели аянской и пихты белокорой. Кроме того, улучшение санитарного состояния и уменьшение нагрузки мертвой древесины благоприятно сказывается на пирогенной обстановке.

Вместе с тем, модернизация традиционных систем лесозаготовок, основанная на изъятии деревьев, попадающих в группу риска при низких и средних по силе природных нарушениях [Drever et. al, 2006], помогла бы создать структуру, приближенную к созданной путем воздействия естественных природных нарушений [Franklin et. al, 2002], свести к минимуму экономический ущерб и повысить устойчивость лесов, по сравнению с естественно развивающимися лесами.

Литература

Захаров Ю.В., Суховольский В.Г. Модели устойчивости деревьев и насаждений к воздействию ветра // Лесоведение, 2004. – №2. – С. 61-67

Drever R.C., Peterson G., Messier C., Bergeron Y., Flannigan M. Can forest management based on natural disturbances maintain ecological resilience? // Canadian Journal of Forest Research, 2006. – №36. – P. 2285-2299

Franklin J. F., Spies T.A., Van Pelt R., Carey A.B., Thornburgh D.A., Berge D.R., Lindenmayer D.B., Harmon M.E., Keeton W.S., Shaw D.C., Bible K., Chen J. Disturbances and structural development of natural forest ecosystems with silvicultural implications, using Douglas-fir forests as an example // Forest Ecology and Management, 2002. – №155. – P. 399-423

Laiho O. Susceptibility of forest stands to windthrow in Southern Finland // Folia Forestalia, 1987. – №706. – P. 1-24

Macisaac D.A., Krygier R. Development and long-term evaluation of harvesting patterns to reduce windthrow risk of understory spruce in aspen – white spruce mixedwood stands in Alberta, Canada // Forestry, 2009. – №82(3). – P. 323-342

Marage D., Lemperiere G. The management of snags: A comparison in managed and unmanaged ancient forests of the Southern French Alps // Annals of Forest Science, 2005. – №62. – P. 135-142

Papaik M. J., Canham C. D., Latty E. F., Woods K. D. Effects of an introduced patho-

## СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛИШАЙНИКОВ В ГОРОДАХ ЮГО-ВОСТОКА ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Е.В. Романова

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, svirko\_e@mail.ru

Городские лишенобиоты в России изучаются в основном с биоиндикационной целью, в городах Западной Сибири лишайники изучены недостаточно. К моменту начала данного исследования лишайники были изучены только в двух крупных сибирских городах – Новокузнецке [Баумгертнер, 1998] и Барнауле [Скачко, 2003], также в литературе имелись фрагментарные сведения о лишайниках Новосибирска [Седельникова, 1997, Барсуков, 2001].

За период 2000-2012 гг. изучены видовое разнообразие и распространение лишайников в двух крупных промышленных центрах – Новосибирске и Кемерово, а также в пяти малых городах в Новосибирской области: Бердск, Искитим, Обь, Кольцово, Краснообск, и проведено лишеноиндикационное картирование этих территорий с использованием индекса полеотолерантности, предложенного Х.Х. Трассом [1985]. Параллельно М.В. Баумгертнер в Кемеровской области проведены сходные исследования для городов Новокузнецк, Осинники и Междуреченск [Баумгертнер, 2011, 2012]. К сожалению, в этих публикациях присутствует ряд нестыковок и спорных вопросов, и их трудно рассматривать как надежный источник информации. В настоящей статье анализируются только оригинальные данные, полученные в ходе полевых работ в городах Новосибирской области и г. Кемерово.

Всего на исследованных территориях выявлено 339 видов из 52 семейств и 92 родов. Видовое богатство лишайников в изученных городах юго-востока Западной Сибири представлено в таблице 1.

Таблица 1

### Видовое богатство лишайников в городах юго-востока Западной Сибири

Город	Число видов	% от общего числа видов
Новосибирск	269	79,4
Искитим	123	36,3
Бердск	83	24,5
Обь	16	4,7
Кольцово	47	13,9
Краснообск	53	15,6
Кемерово	175	51,6
Новокузнецк [Баумгертнер, 1998, 2011]	21	-
Осинники [Баумгертнер, 2011]	60	-
Междуреченск [Баумгертнер, 2012]	136	-
Барнаул [Скачко, 2003]	23	-

В верхней части таксономических спектров местных лишенобиот неизменно присутствуют *Physciaceae*, *Parmeliaceae*, *Vacidaceae*, *Lecanoraceae* и *Teloschistaceae*. Виды семейства *Parmeliaceae* встречаются и доминируют только на слабо урбанизированных участках и деградируют по мере усиления антропогенной нагрузки. Повсеместно распространены устойчивые к антропогенному воздействию *Caloplaca cerina* (Ehrh. ex



Hedw.) Th. Fr., *C. flavorubescens* (Huds.) J. R. Laundon, *C. holocarpa* (Hoffm. ex Ach.) Wade, *Candelariella xanthostigma* (Ach.) Lettau, *Lecanora populicola* (DC.) Duby, *L. pulicaris* (Pers.) Ach., *Phaeophyscia kairamoi* (Vain.) Moberg, *Ph. orbicularis* (Neck.) Moberg, *Physcia dubia* (Hoffm.) Lettau, *Ph. stellaris* (L.) Nyl., *Ph. tenella* (Scop.) DC., *Physconia detersa* (Nyl.) Poelt, *Ph. grisea* (Lam.) Poelt, *Rinodina pyrina* (Ach.) Arnold, *Xanthoria candelaria* (L.) Th. Fr., *X. fallax* (Hepp) Arnold, которые можно охарактеризовать как ядро городской лишенобиоты на изучаемых территориях. Но даже наиболее устойчивые виды погибают при дальнейшем усилении антропогенного воздействия – почти в каждом из обследованных городов есть территории, на которых лишайники полностью отсутствуют (таблица 2). Такие участки в отечественной лишенологической литературе носят название «лишайниковая пустыня»; в изучаемых районах они располагались не только вдоль крупных транспортных автомагистралей и вокруг промышленных предприятий, но и непосредственно в жилых кварталах.

**Таблица 2**

**Относительная величина лишеноиндикационных зон в городах юго-востока Западной Сибири**

Город	Величина зон загрязнения (% от общей площади города)				
	Слабого	Умеренного	Среднего	Значительного	«Лишайниковая пустыня»
Новосибирск	8,5	15,3	11,6	16,5	35,0
Искитим	0	4,3	85,7	0	10,0
Бердск	0	24,5	43,0	0	33,0
Обь	0	0	30,0	0	70,0
Кольцово	0	60,0	20,0	0	17,0
Краснообск	0		30,0	70,0	0
Кемерово	1,0	20,0	12,7	40,0	26,3

Спектры жизненных форм в городских лишенобиотах юго-востока Западной Сибири довольно однообразны. Во всех изученных городах накипные лишайники (доля которых может достигать 61 %) преобладают над листоватыми. Роль кустистых лишайников в урбоэкосистемах невелика – максимальная их доля в лишенобиоте отмечена для Новосибирска и составляет 17 %. При этом все зафиксированные местонахождения кустистых лишайников представляют собой сохранившиеся естественные сообщества на некотором удалении от источников атмосферного загрязнения. В городских парках, скверах, внутриквартальных насаждениях и лесополосах вдоль автомагистралей кустистые лишайники либо полностью отсутствовали, либо были представлены полуразрушенными фрагментами талломов.

Во всех обследованных городах большинство видов выявлено на естественных субстратах, преимущественно на коре древесных растений (таблица 3). В качестве особенности городских лишенобиот юго-востока Западной Сибири можно отметить чрезвычайно малое видовое разнообразие лишайников (а зачастую и полное их отсутствие) на искусственных субстратах в городских кварталах. Лишайники на бетоне, металлических конструкциях, синтетических материалах встречались автору, как правило, под пологом пригородных лесов или в пойменных сообществах. Возможно, искусственные субстраты слабо заселены лишайниками из-за резко континентального климата, свойственного исследуемой территории. По-видимому, атмосферное загрязнение продуктами горения углеводородов в совокупности с низкой влажностью большую часть года делает искусственные субстраты в городах Сибири практически непригодными для заселения лишайниками. Видовое разнообразие напочвенных лишайников в городах так-

же было невысоким, они были зарегистрированы только в пригородных лесах на участках, испытывающих сравнительно слабую рекреационную нагрузку.

**Таблица 3**

**Распределение лишайников по субстратам в городах юго-востока Западной Сибири**

Город	Число видов				
	Кора древесных растений	Обработанная и гниющая древесина	Почва	Каменистый субстрат	Искусственные субстраты
Новосибирск	174	21	17	29	28
Искитим	103	5	2	7	6
Бердск	71	4	-	-	8
Обь	16	-	-	-	-
Кольцово	45	-	2	-	-
Краснообск	53	-	-	-	-
Кемерово	102	5	9	39	20

Представленные результаты являются предварительными сведениями о городских лишайнофлорах юго-востока Западной Сибири.

Автор выражает благодарность сотрудникам ЦСБС СО РАН: Н.В. Седельниковой за консультации при определении лишайников, Е.Р. Романову и П.К. Василенко за помощь при полевых работах.

#### Литература

Барсуков Е. В. Лишайнофлора приобского ленточного бора (Новосибирская область) // Сибирский экологический журнал. – 2001. - № 4. - С. 507-512.

Баумгертнер М.В. Лишайники – биоиндикаторы загрязнения окружающей среды юга Кемеровской области // Сибирский экологический журнал. – 1998. - №2. - С. 191-196.

Баумгертнер М.В. Оценка экологического состояния окружающей среды Кемеровской области с помощью метода лишайноиндикации // Проблемы региональной экологии, 2011. – №6. – С. 180-183.

Баумгертнер М.В. Распространение лишайников на территории г. Междуреченск // Проблемы региональной экологии, 2012. – №1. – С. 37-40.

Седельникова Н.В. Первопоселенцы (лишайники и мхи). – Новосибирск: КОЦ «Мост», 1997. – С.49-51.

Скачко Е.Ю. Лишайники степной и лесостепной зон Алтайского края и их использование для биоиндикации состояния окружающей среды. – автореферат диссертации кандидата биологических наук. – Барнаул, 2003. – 20 с.

Трасс Х.Х. Классы полевотолерантности лишайников и экологический мониторинг // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. – Л.: Гидрометеоиздат, 1985. – Т.7. – С. 122-137.

## ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИДАЗЫ ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В ЛЕСАХ ПРЕДБАЙКАЛЬЯ

И.М. Романова, Т.Е. Путилина, М.А. Живетьев, И.А. Граскова

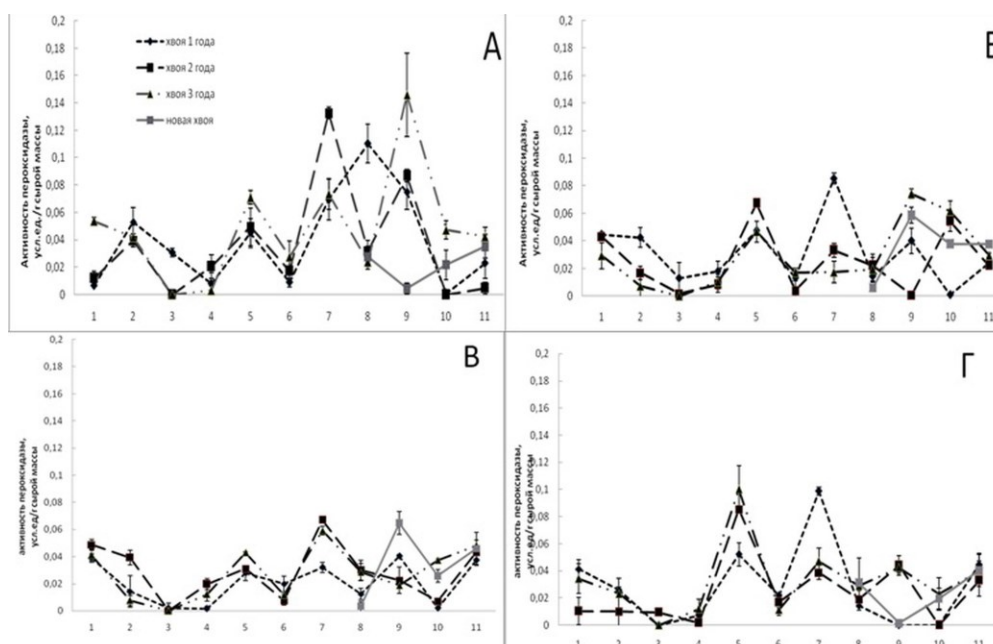
Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, graskova@sifibr.irk.ru

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) является одним из основных лесообразующих видов на территории Предбайкалья. В условиях Сибири в течение года она подвергается сильной смене температурных условий, что должно отражаться на функционировании ее ферментных систем в разные сезоны года и фазы развития, так как температура окружающей среды является основным лимитирующим фактором роста и развития растения, особенно в зимний период [Шуляковская, 2006]. Одним из ферментов, наиболее выражено реагирующим на изменение условий окружающей среды, является пероксидаза. Наличие множественных форм этого фермента позволяет ему работать в разных условиях и выполнять разную функциональную нагрузку [Андреева, 1988]. Так, изменения активности и изоферментного спектра пероксидазы отмечают при различных биологических, физических и химических воздействиях на растения [Андреева и др., 1979; Карпец и др., 2009; Колупаев, Карпец, 2010; Zolfaghari et al., 2010], в том числе при температурном стрессе [Ершова, 2007; Müftügil, 1985; Gülen, Eris, 2004; Thongsook, Barrett, 2005; Gülen et al., 2008], химическом загрязнении окружающей среды [Жуйкова, Безель, 2009; Шилова, 1990; Неверова, 2001; Сарсенбаев и др., 1983; Siesko et al., 1997] и при интродукции растений в новые экологические условия [Долгова, 2004]. Поэтому целью исследований было проанализировать изменения активности пероксидазы в хвое сосны обыкновенной в течение года. Исследования проводились на участках п. Большой Луг, ИркАЗ, п. Олха, п. Мельничная Падь. Пробы отбирались ежемесячно с ноября 2011 г. по сентябрь 2012 г. включительно. Отбирали хвою первого, второго и третьего годов, а с июля 2012 г. – молодую («новую») хвою. В образцах определяли общую активность гваякол-зависимой пероксидазы по методу Бояркина [1951]. Полученные результаты представлены на рисунке 1.

Минимум активности пероксидазы наблюдается в январе-феврале, который характерен для хвои всех годов всех точек. Это может быть связано с тем, что растения находятся в состоянии вынужденного покоя. В марте отмечается сильная повсеместная активация пероксидазы хвои всех трех лет, что может быть связано с весенним усилением физиологических процессов в хвое и с активацией обмена веществ в связи с переключением зимнего замедленного метаболизма на оживленный весенне-летний. В апреле происходит спад активности фермента, но в мае, перед появлением молодой хвои, наблюдается новый пик активности пероксидазы, сопровождающийся появлением новых побегов и их усиленным ростом, за исключением хвои третьего года у ИркАЗа, когда активность пероксидазы начинала возрастать не в мае, а в июле. Вообще, с ноября по июль для территории у ИркАЗа хвоя первого года обладала большей активностью пероксидазы по сравнению с хвоей второго года, и еще ниже значения активности были у хвои третьего года. На основании этого можно предполагать угнетение фермента в хвое сосны на этом участке. В то же время, с появлением новой хвои в июне-июле наблюдается сильный рост активности пероксидазы именно у хвои третьего года, причем этот рост превышал в два раза увеличение активности хвои первого года, а хвоя второго года увеличивала свою активность только к августу (ИркАЗ). Для Мельничной Пади с ноября по май хвоя второго года лидирует по активности пероксидазы над хвоей других генераций. В Олхе в течение всего года преобладает активность этого фермента в хвое третьего года, за исключением мая, на который приходился пик хвои первого года.

Наибольшие значения активности фермента за весь период наблюдений отмечены для Большого Луга (хвоя первого года – в июне, второго года – в мае, третьего года – в июле), чуть меньшие – в Олхе (для хвои первого года – максимальный пик активности в мае, второго и третьего – в марте) и еще меньше на ИркАЗе (у хвои первого года наибольшая активность была в мае, второго года – в марте, третьего – в июле). Наименьшая максимальная активность пероксидазы была в Мельничной Пади (в мае пики хвои второго и третьего года, в июле – новой хвои, а у хвои первого года активность колеблется на относительно низком уровне и летние пики активности не превышают зимние). Это позволяет предположить, что в Большом Лугу, Олхе и на ИркАЗе растения могут подвергаться каким-то стрессирующим факторам, в отличие от района Мельничной Пади, где активность фермента держится на относительно низком уровне.

Для осеннего периода характерны более или менее высокие активности гваякол-пероксидазы с сентября по ноябрь-декабрь, что связано с ее участием в стресс-адаптации к низким температурам в зимний период.



**Рис. 1. Годовая динамика активности гваякол-пероксидазы в хвое сосны обыкновенной (2011-2012): А-Большой Луг, Б-Ирказ, В-Мельничная падь, Г-Олха, 1-ноябрь, 2-декабрь (2011), 3-январь, 4-февраль, 5-март, 6-апрель, 7-май, 8-июнь, 9-июль, 10-август, 11-сентябрь (2012)**

Таким образом, показано, что активность пероксидазы у сосны обыкновенной изменяется в зависимости от сезона года, что, вероятнее всего, связано с температурным режимом и активностью процессов жизнедеятельности растительного организма. Причем, хвое разного возраста свойственен свой уровень активности пероксидазы в разные периоды времени. Наблюдаются существенные отличия в динамике активности пероксидазы в разных точках отбора, которые отличаются по температурному режиму, по количеству осадков, по техногенной нагрузке.

#### Литература

Андреева В.А., Воронова В.А., Угарова Н.Н. Активность изоферментных спектр, термостабильность и молекулярный вес пероксидазы, выделенной из здоровых и зараженных вирусами растений табака // Биохимия, 1979. - №3. – С. 394-398.

Андреева В.А. Фермент пероксидаза. – М.: Наука, 1988. – 128с.

Бояркин А.Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы // Биохимия, 1951. - №16. – С. 352.

Долгова Л.Г. Активность пероксидазы – показатель устойчивости растений-интродуцентов в условиях степной зоны Украины // Вестник Днепропетр. ун-та. - №1. – С. 38-41.

Ершова А.Н. Метаболическая адаптация растений к гипоксии и повышенному содержанию диоксида углерода. – Воронеж.: Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2007. – 264с.

Жуйкова Т.В., Безель В.С. Адаптация растительных систем к химическому стрессу: популяционный аспект // Вестник Удмуртского университета, 2009. - №1. – С. 31-42.

Карпец Ю.В., Ястреб Т.О., Обозный А.И., Колупаев Ю.Е. Активность и термостабильность антиоксидантных ферментов корней проростков пшеницы после воздействия экзогенного пероксида водорода // Вестник Харьковского Национального Аграрного Университета, 2009. - №2. – С. 62-70.

Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. – Киев: Основа, 2010. – 352с.

Неверова О.А. Использование активности пероксидазы для оценки физиологического состояния древесных растений и качества атмосферного воздуха г. Кемерово // Kryoivia, 2001. – №2. – С. 122-128.

Рогожин В.В. Пероксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов. – СПб.: ГИОРД, 2004. – 240с.

Сарсенбаев К.Н., Мезенцева Н.И., Полимбетова Ф.А. Влияние двуокиси серы на активность и компонентный состав свободной и связанной фракции пероксидазы проростков яровой пшеницы // Физиол. и биох. культ.растений, 1983. - №1. – С. 51-55.

Шилова И.И. Естественная растительность свалок и полигонов твердых бытовых и промышленных отходов в условиях крупного промышленного города // Естественная растительность промышленных и урбанизированных территорий Урала, 1990. – С. 41-57.

Шуляковская Т.А., Ильинова М.К., Кищенко И.Т., Потапова М.Н. Динамика изоферментного состава пероксидазы и содержания пигментов в хвое видов *Picea Dieter.*, интродуцированных в Карелию // Hortus Botanicus, 2006, <http://hortus.karelia.ru/bgm/hb.htm>. – С. 1-8.

Gülen H., Eris A. Effect of heat stress on peroxidase activity and total protein content in strawberry plants // Plants science, 2004. - №3. – С. 739-744.

Gülen H., Cetinkaya C., Kadioğlu M., Cansev A., Eris A. Peroxidase activity and lipid peroxidation in strawberry (*Fragaria X ananassa*) plants under low temperature // J. Biol. Environ. Sci., 2008. - №2. – С. 95-100.

Müftügil N. The peroxidase enzyme activity of some vegetables and its resistance to heat // J. Sci. Food Agric, 1985. - №36. – С. 877-880.

Siesko M.M., Fleming W.J., Grossfeld R.M. Stress protein synthesis and peroxidase activity in a submersed aquatic macrophyte exposed to cadmium // Environmental toxicology and chemistry, 1997. – №8. – С. 1755-1760.

Thongsook T., Barrett D. Heat inactivation and reactivation of broccoli peroxidase //Journal of agricultural and food chemistry, 2005. - №53. – С. 3215-3222.

Zolfaghari R., Hosseini S.M., Korori S.A.A. Relationship between peroxidase and catalase with metabolism and environmental factors in Beech (*Fagus orientalis* Lipsky) in three different elevations // International journal of environmental sciences, 2010. – №2. – С. 243-252.

## БИОИНДИКАЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ОЦЕНКЕ УСТОЙЧИВОСТИ НАРУШЕННЫХ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ

Л.Н. Скрипальщикова, В.В. Стасова

Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, lara@ksc.krasn.ru, roman@akadem.ru

Промышленное освоение природных ресурсов Красноярского края приводит не только к резкому сокращению площади лесов вследствие их вырубки, но и к постепенной деградации лесов под влиянием все возрастающих техногенных нагрузок. Эти процессы значительно ускоряются в связи с темпами развития и эксплуатации теплоэнергетики, металлургии, автотранспорта и роста населения в крае, что может привести к ослаблению лесов и даже их полной гибели в зонах многолетнего интенсивного влияния синергизма техногенных выбросов и рекреационных нагрузок. Особое место среди лесных территорий занимают леса зеленых зон вокруг промышленных городов, которые выполняют важнейшие почвозащитные, водоохранные и санитарно-гигиенические функции.

В настоящее время процент лесистости на территории Красноярско-Ачинской лесостепи в результате деятельности человека значительно ниже оптимального. Поэтому крайне важно не допустить гибели существующих лесных массивов от избыточных техногенных нагрузок. В связи с этим актуальной является разработка методов ранней диагностики жизненного состояния насаждений. Получение биоиндикационных показателей нарушенности насаждений позволяет определять предельно допустимые нагрузки на древесную растительность и разрабатывать сценарии прогнозов ее состояния с учетом длительности и интенсивности антропогенного воздействия.

Одним из удобных способов оценки интенсивности антропогенного воздействия на среду и живые объекты является метод оценки по показателям нарушения стабильности развития организмов. При этом наиболее широко применяется морфогенетический подход, основанный на оценке внутрииндивидуальной изменчивости морфологических структур, в частности, степени выраженности флуктуирующей асимметрии [Захаров и др., 2000].

Цель исследований состояла в выявлении флуктуирующей асимметрии (ФА) листовой пластинки березы повислой и хвои сосны обыкновенной в насаждениях, произрастающих в Красноярско-Ачинской лесостепи в условиях фона и в зонах разной интенсивности техногенных нагрузок. В процессе исследований определялись уровни техногенных нагрузок на лесные фитоценозы.

Изучение флуктуирующей асимметрии (ФА) хвои сосны проводили по методике М.В. Козлова [Kozlov et al., 2002]. Для березы повислой показатель ФА рассчитывался по методу В.М. Захарова с соавторами [2000].

В пригородных лесах Красноярска ФА изучалась на мониторинговых пробных площадях в березняках разнотравных и сосновых массивах в зоне многолетнего влияния выбросов теплоэнергетических, металлургических, цементных предприятий и разрабатываемых известняковых карьеров. В Назаровской котловине в качестве объектов были выбраны березняки разнотравные, продуцирующие на различном расстоянии от Березовской ГРЭС -1.

В березняках, произрастающих в районах с длительным и очень высоким уровнем загрязнения атмосферы, выявлены высокие показатели асимметрии листовой пластинки. Так, для березняков в Ачинской лесостепи в зоне воздействия пылевых и газообразных выбросов Березовской ГРЭС-1 показатель ФА изменяется от 0,021 до 0,075. В условиях относительного фона его величина варьирует от 0,016 до 0,039.

В результате различий природно-климатических условий произрастания и уров-

ней антропогенных нагрузок проявляются отклонения от нормы в стабильности развития листовой пластинки березы в условиях пригорода Красноярска. Показатель нарушения развития листовой пластинки (стандартного модельного вида) изменяется по годам и составляет 0,016 - 0,065.

Для хвои сосны обыкновенной также можно отметить повышение уровня асимметрии, что свидетельствует об ухудшении качества среды. Особенно это отмечено в сосновых насаждениях, продуцирующих в зоне прямого загрязнения атмосферы и почв тяжелыми металлами, фтором и его соединениями с Красноярского алюминиевого завода. Под действием этих загрязняющих веществ в лесных массивах наблюдается уменьшение прироста растений, усыхание чувствительных видов, что является следствием нарушения всего комплекса физиологических процессов. Взаимосвязь флуктуирующей асимметрии с содержанием тяжелых металлов в хвое сосны обыкновенной характеризуется как значительная и выражается отрицательным коэффициентом корреляции 0,6.

Физиологически активная хвоя, проявляя отклонение от симметрии по признаку двусторонне симметричного организма, интенсивно реагирует на техногенный стресс. Происходящие при этом морфологические и анатомические изменения фотосинтезирующих органов древесных растений представляют собой легко выявляемые и информативные признаки.

Полученные показатели ФА характеризуют среду в районах произрастания как сильно загрязненную. Данные исследования подтверждают ранее полученные результаты зонирования по степени загрязнения пригородной зоны г. Красноярска [Экологическое состояние..., 2009] и результаты исследований по абсорбции пыли и изменениям биологической продуктивности в березняках в зоне влияния Березовской ГРЭС-1 [Скрипальщикова, 1997].

Таким образом, в условиях длительных техногенных нагрузок для березовых и сосновых насаждений Красноярско-Ачинской лесостепи, произрастающих в зонах интенсивного влияния промышленности и тепловых станций, работающих на бурых углях, характерна низкая стабильность развития березы и сосны, нарушение гомеостаза продукционных процессов. Отражением этого является отклонения от двухсторонней симметрии у организмов и их частей на уровне органов и тканей. В дальнейшем повышение интенсивности и длительности техногенных нагрузок может привести к деградации как отдельных деревьев, так и древостоев в целом, и, как результат, к снижению средообразующих функций насаждений в лесостепных районах юга Средней Сибири.

#### Литература

Захаров В.М., Баранов А.С., Борисов В.И., Валецкий А.В., Кряжева Н.Г., Чистякова Е.К., Чубинишвили А.Т. Здоровье среды: методика оценки. – М.: Центр экологической политики России, 2000. – 68 с.

Скрипальщикова Л.Н. Пылеулавливающие свойства лесных экосистем в лесостепных районах Средней Сибири. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Красноярск. – 1997. – 19 с.

Экологическое состояние пригородных лесов Красноярска. Новосибирск: Академическое изд-во "Гео", 2009. – 179 с.

Kozlov M.V., Niemela P., Junttila J. Needle fluctuating asymmetry as a sensitive indicator of pollution impact on Scots pine (*Pinus sylvestris*) // Ecological indicators. – 2002. – V. 1. – P. 271 – 277.

## ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ И ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ВИДОВ АРБОРИФЛОРЫ ИСТОРИЧЕСКИХ ПАРКОВ ИРКУТСКА

А.В. Соколова, Т.И. Морозова, Т.А. Пензина

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,  
Иркутск, acok12@mail.ru, penzina@sifibr.irk.ru

Исследования состояния растительности в урбоэкосистемах необходимо для внедрения комплексного универсального подхода объективных методов контроля загрязнения и экологически сбалансированного развития города. Одним из направлений оценки состояния природной среды является ландшафтно-экологический анализ, который включает изучение распределения загрязняющих веществ в компонентах городского ландшафта. Таким образом важным становится получение сведений о состоянии городской растительности, как индикатора состояния окружающей среды [Саэт, 1990; Захаров, 2001; Шергина, Михайлова, 2007].

Иркутск – старинный сибирский город, основанный в 1661 году. Он отнесён к историческим поселениям. Будучи крупным промышленно-деловым центром, характеризуется высоким уровнем загрязнения атмосферного воздуха и на протяжении десятка лет входит в список городов России с самым высоким средним уровнем загрязнения атмосферы [Государственный доклад, 2008]. Это связано в основном с выбросами отавтомобильного транспорта (52%) и объектов промышленности. [Автомобильный транспорт Иркутской области, 2010]. В Иркутске имеется несколько парков и скверов: сквер им. Кирова, Сукачевский сад в комплексе со Спасской церковью и мемориалом «Вечный огонь», бульвары Гагарина, Постышева; парк-мемориал в микрорайоне Лисиха, парк-мемориал «Иерусалимская гора» на месте ЦПКиО, зеленая зона Академгородка, парк «Авиастроителей» или Комсомольский, парк им. Парижской Коммуны, роща «Звездочка», комплекс островов Юность, Конный, парк Сукачевский, Тополиная аллея, Роща железнодорожной больницы, комплекс Иркутской ГЭС, Кайская роща.

Исследования зеленых насаждений проводились на территории исторических садов и парков г. Иркутска. Целью данной работы является оценка жизненного состояния и устойчивости таких наиболее распространенных в парковом деле лиственных пород деревьев как: тополь бальзамический (*Populus balsamifera* L.), береза повислая (*Betula pendula* L.), клен ясенелистный (*Acer negundo* L.), вяз гладкий (*Ulmus laevis* L.), груша уссурийская (*Pyrus ussuriensis* L.), яблоня ягодная (*Malus baccata* Hill), липа сердечная (*Tilia cordata* L.). Кустарники рассматриваются следующие: черемуха обыкновенная (*Prunus padus* L.), ива козья (*Salix caprea* L.), жимолость татарская (*Lonicera tatarica* L.), дерен белый (*Swida alba* Opiz), шиповник иглистый (*Rosa acicularis* L.).

Использовался комплексный подход, состоящий из морфолого-физиологического анализа и фитопатологического исследования. Геоботанические описания и фитопатология проводились на всех площадках. Макроскопическим способом выявлялись болезни листьев и побегов, определение видовой принадлежности болезней велось путём микроскопирования. По наличию дупел устанавливалось наличие стволовых гнилей, идентификация возбудителей происходила по плодовым телам.

В городских садах и парках практически отсутствует естественный валеж. Поэтому древоразрушающие грибы вынуждены занимать стволы и ветви живых деревьев, сухобочины живых деревьев, пни. Специфичность и характер субстрата определяет скопление спорового материала именно паразитирующих организмов. Таким образом, в городской среде создаются условия для численного преимущества паразитических организмов над сапрофитными. В парках г.Иркутска это соотношение равно 2:1. Всего выявлено 58 видов древоразрушающих грибов. Грибы-микромикеты, обитающие в



крене деревьев, развиваются в массе вдоль основных магистралей – в местах с наиболее загрязненным воздухом. В итоге фитопатологического обзора на пробных площадках парков г.Иркутска было обнаружено 19 грибных заболеваний, вызванных различными возбудителями. Бактериальные заболевания. Из обследованных пород деревьев и кустарников к наиболее устойчивым к грибным поражениям отнесены следующие виды древесных пород: вяз гладкий, сирени, груша обыкновенная, липа сердечная, лиственница. На этих породах были обнаружены только повреждения насекомыми, бактериями и клещами. Сильное поражение характерно для яблони, боярышника кроваво-красного, тополя бальзамического и его гибридов. В результате проведенного фитопатологического анализа было установлено, что характерные для городской среды условия влияют на распространение грибных заболеваний растительности г. Иркутска. Ослабление зеленых насаждений в результате болезней сильнее происходит вблизи автотранспортных магистралей. Распространению грибных заболеваний способствуют регулярные обрезки ветвей и стволов в результате чего появляются множество раневых поверхностей. Распространению заболеваний и быстрому выпадению деревьев способствует также загущенные насаждения в результате самосева. Так, в парке музея-усадьбы В.П.Сукачева в течение последних 20 лет наблюдалось стремительное сокращение количества исторических деревьев. Основные причины этого процесса – неконтролируемое разрастание кустарников и обильный самосев клена ясенелистного, который вышел во второй ярус и образовал плотный полог, что благоприятно сказалось на развитии дереворазрушающих грибов.

Одной из причин развития опасных болезней, принимающих характер эпифитотий, является использование монокультур в городской среде. В связи с этим выявление патологий деревьев и кустарников, установление их причин и возбудителей, изучение их биологии даёт возможность правильно сформировать видовой состав городских насаждений, принять меры по борьбе и своевременному предупреждению болезней, что может значительно повысить срок жизни, эстетический вид насаждений и качество городской среды в целом.

#### Литература

Автомобильный транспорт Иркутской области. Статистический сборник. Иркутскстат. г. Иркутск, 2010.- С. 24.

Государственный доклад о состоянии и об охране окружающей среды Иркутской области в 2008 г. <http://ecology.irkobl.ru/sites/ecology/news/Doklad2008.pdf>

Захаров В.М. Мониторинг здоровья среды на охраняемых природных территориях – М. Центр экологической политики России, 2001. - С. 81-82

Саев И.Е., Ревич, В.А., Янин Е.П. Геохимия окружающей среды. М. Недра. 1990. 335 с.

Шергина О.В., Михайлова Т.М. Состояние древесных растений и почвенного покрова парковых и лесопарковых зон г. Иркутска - Иркутск: Изд-во Института географии СО РАН, 2007.- 200с.

## ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ЯБЛОНИ СИБИРСКОЙ (*MALLUS BACCATA* (L) BORK.) В ЗОНЕ КОНТАКТА ЛЕСА И СТЕПИ В СЕЛЕНГИНСКОЙ ДАУРИИ

А.В. Столбикова, А.В. Рудиковский, Л.В. Дударева

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, alecsandrit@rambler.ru

Водный дефицит является сильнейшим стрессовым фактором, оказывающим значительное влияние на рост и развитие высших растений. Показано, что недостаток воды приводит к падению тургорного давления, вследствие чего замедляется рост и растяжение клеток. Для предотвращения потерь воды запускаются механизмы устьичной регуляции, которые ограничивают интенсивность транспирации. Закрывание устьиц приводит к недостатку углекислого газа и, как следствие, к снижению скорости фотосинтеза. Водный стресс приводит к изменению количественного отношения в содержании пигментов. Все это, при достаточной интенсивности и длительности засушливых условий произрастания, может существенно повлиять на ростовые процессы и стать одной из причин формирования карликовости растений. Для того чтобы прояснить пути влияния водного дефицита на формирование карликовости, следует провести сравнительный анализ карликовых и высокорослых растений одного вида, произрастающих в условиях разной водообеспеченности.

В связи с этим, особый интерес для исследования представляет яблоня ягодная (*Malus baccata* L. Borkh), которая произрастает на территории Селенгинской Даурии. Ее карликовая форма отличается не только по морфологическим, но и по биохимическим показателям от высокорослой яблони, растущей в этих же условиях. Поскольку одним из наиболее важных показателей состояния растения является активность его фотосинтетического аппарата (ФСА) [Мокроносов, 1981], то целью работы был сравнительный анализ пигментного состава в тканях листьев карликовой и высокорослой яблони и изучение эффективности ФСА у обеих форм.

Карликовая и высокорослая формы *Malus baccata* растут вблизи с. Ягодное (г. Гусиноозерск, республика Бурятия) в условиях резко континентального климата, для которого характерны резкие перепады средних суточных температур, майско-июньская засуха, высокая инсоляция и неравномерное выпадение осадков [Агроклиматические ресурсы Бурятской АССР, 1974]. Влажность почвы на момент исследований составляла  $60.7 \pm 7,3$  % и  $77.0 \pm 4,2$  % от полной полевой влагоемкости для карликовой и высокорослой яблони соответственно. Кроме этого, были изучены такие же две формы яблони, ранее пересаженные в более благоприятные условия - на территорию экспериментального участка СИФИБР, г. Иркутск. Влажность почвы участка составляла  $79,6 \pm 9,1$  % от полной полевой влагоемкости. Экстракцию общих пигментов проводили 100 % ацетоном, количественный и качественный состав пигментов определяли с помощью программы расчета спектрального распределения максимумов поглощения гауссовых пиков [Kuprer, 2007]. Флюоресценцию хлорофилла измеряли у полностью сформировавшихся листьев карликовой и высокорослой яблони, растущих на хорошо освещенной средней части кроны, при помощи полевого комплекса РАМ-2500 (Германия). Коэффициент вариации полученных значений не превышал 33 %.

Установлено, что суммарное содержание хлорофиллов (А и В) существенно отличалось у карликовых и высокорослых форм яблони, произрастающих в естественных условиях. Так, карликовые деревья содержали примерно в два раза меньше хлорофиллов, чем высокорослые (табл. 1), эта разница сохранялась на протяжении всего летнего периода. Карликовая и высокорослая формы интродуцированной яблони по суммарному содержанию зеленых пигментов имели менее выраженные различия (табл. 1). Воз-

можно, это указывает на то, что интродуцированная карликовая яблоня испытывает стресс в меньшей степени, чем деревья, растущие в естественных условиях. Также, наблюдали увеличение количества каротиноидов по отношению к общему содержанию пигментов ФСА в карликовой яблоне, произрастающей в естественных условиях, в отличие от ее высокорослой формы (табл. 1). А, так как каротиноиды являются вспомогательными пигментами светособирающей антенны, то такое увеличение может быть следствием недостатка хлорофиллов в клетке. Скорее всего, в данном случае, происходит усиление акцепторной функции ФСА в карликовой яблоне.

При расчете степени дезоксидации (СД) было установлено, что активность виолаксантинового цикла в июне была одинаковой в обеих формах яблони, произрастающей в естественных условиях (табл.2), тогда, как в июле и сентябре СД была выше у высокорослой формы примерно на 10% и 40% соответственно. Повышение СД, скорее всего, связано с большим содержанием хлорофилльных антенных центров в высокорослой яблоне и, как следствие, с большей необходимостью рассеивать избыточную световую энергию в виде тепла. Функционирование виолаксантинового цикла в листьях двух форм интродуцированной яблони практически не менялось на протяжении всего летнего периода (табл. 2).

**Таблица 1**

**Содержание и соотношение содержаний хлорофиллов и каротиноидов в листьях карликовой и высокорослой яблони ягодной**

	Месяц	Карлик Ягодное	Высок. Ягодное	Карлик СИФИБР	Высок. СИФИБР
ChlA+ChLB, мг/г сух. массы	Июнь	1,8 ± 0,3	3,2 ± 0,1	3,1 ± 0,2	4,0 ± 0,5
	Июль	3,2 ± 0,9	5,1 ± 0,1	3,3 ± 0,1	4,0 ± 0,1
	Сентябрь	2,4 ± 0,3	4,5 ± 0,4	4,6 ± 0,3	5,1 ± 0,9
ChlA/ChLB	Июнь	2,9 ± 0,4	3,3 ± 0,2	2,8 ± 0,1	2,2 ± 0,3
	Июль	3,0 ± 0,2	3,8 ± 0,7	3,8 ± 0,2	2,2 ± 0,3
	Сентябрь	2,4 ± 0,3	2,7 ± 0,4	3,2 ± 0,1	2,1 ± 0,1
(ChlA+ChLB)/Carot	Июнь	4,5 ± 0,6	5,6 ± 0,3	4,1 ± 0,3	5,4 ± 0,5
	Июль	4,9 ± 0,1	5,3 ± 0,3	4,1 ± 0,3	5,4 ± 0,5
	Сентябрь	4,5 ± 0,6	5,2 ± 0,0	5,5 ± 0,7	11,6 ± 1,3

**Таблица 2**

**Степень дезоксидации\* виолаксантинового цикла в листьях карликовой и высокорослой яблони ягодной**

Месяц	Карлик Ягодное	Высок. Ягодное	Карлик СИФИБР	Высок. СИФИБР
Июнь	0,31 ± 0,03	0,32 ± 0,07	0,27 ± 0,02	0,27 ± 0,01
Июль	0,47 ± 0,10	0,60 ± 0,05	0,36 ± 0,02	0,34 ± 0,02
Сентябрь	0,23 ± 0,03	0,37 ± 0,17	0,33 ± 0,04	0,28 ± 0,05

\*Дезоксидация ВКЦ рассчитывалась по формуле:  $(Z+0.5A)/(V+A+Z)$ , где Z – зеаксантин, A – антраксантин, V – виолаксантин.

Было установлено, что у обеих форм яблони, растущей в естественных условиях, отмечается увеличение показателя фоновой флюоресценции F0 и уменьшение реального квантового выхода  $\Delta F/F'$  м ФС 2 относительно обеих форм интродуцированных деревьев (табл. 3). Это может быть следствием нарушения функций тилакоидных мембран в стрессовых условиях произрастания, которое обычно сопровождается снижени-

ем квантового выхода фотосинтеза. И, кроме того, может свидетельствовать как о частичной диссоциации ССК от ФС 2, так и о большей потере энергии возбуждения при ее переносе к реакционным центрам [Рибейро, 2008]. Наблюдали различия в показателях процесса нефотохимического тушения (НФТ) флюоресценции: в двух формах яблони, растущих в естественных условиях, коэффициент НФТ был выше, чем в интродуцированных деревьях (табл. 3), что является регуляцией рассеивания избыточной световой энергии путем диссипации. По относительной скорости электронного транспорта (СЭТ) формы яблони, растущие в условиях интродукции, не различались (табл. 3). Напротив, в естественных условиях у высокорослых форм яблони среднее значение показателя СЭТ на 30% было выше, чем в карлике. Известно, что СЭТ является одним из основных показателей эффективности передачи световой энергии от ССК к РЦ ФС 2, а формула его расчета отражает зависимость между реальным квантовым выходом ФС 2 и плотностью потока фотонов у растения, адаптированного к свету. Исходя из этого, можно предположить, что, так как по показателям реальной квантовой эффективности карликовая и высокорослая формы, растущие в естественных природных условиях, не различались, то понижение СЭТ в карликовой яблоне связано со снижением общего количества зеленых пигментов ФСА по сравнению с высокорослой формой.

Таблица 3

**Основные параметры флюоресценции хлорофилла в ФС 2  
в листьях карликовой и высокорослой яблони ягодной. Июнь 2011г.**

	Карлик Ягодное	Высок. Ягодное	Карлик СИ- ФИБР	Высок. СИФИБР
Фоновая флюоресценция, F <sub>0</sub>	0,12 ± 0,02	0,13 ± 0,03	0,10 ± 0,02	0,11 ± 0,02
Видимый квантовый выход, *ΔF/F'm	0,10 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,17 ± 0,04	0,20 ± 0,04
Нефотохимическое тушение, НФТ	0,63 ± 0,03	0,62 ± 0,06	0,52 ± 0,05	0,51 ± 0,05
Скорость электронного транспорта, СЭТ	35,66 ± 5,63	54,14 ± 6,66	50,76 ± 11,44	45,76 ± 6,52

\*ΔF/F'm – реальная квантовая эффективность, где ΔF=F'm-Fs – переменная флюоресценция на свету; F'm и Fs – максимальная и стационарная флюоресценции на свету.

Таким образом, обнаружено, что яблони, растущие в естественных условиях при недостатке почвенной влаги, имеют различия в работе ФСА по сравнению с интродуцированными деревьями. А именно: показано различие в количественном содержании хлорофиллов и каротиноидов, а также в работе виолаксантинового цикла между карликовой и высокорослой формами. Уменьшение реального квантового выхода и увеличение нефотохимического тушения, которые характеризуют эффективность ФС 2, тоже указывают на меньшую активность ФСА яблони в естественной среде обитания.

Кроме того, установлено, что карликовая и высокорослая яблони, произрастающие в естественной среде, находятся в разных условиях водообеспеченности. При этом они отличаются количественным содержанием хлорофиллов ФСА в листьях и величиной относительной скорости потока электронов в ФС 2, что свидетельствует об уменьшении эффективности работы ФСА в карликовой яблоне. Относительно высокое содержание каротиноидов в карликовой яблоне, может приводить к увеличению поглощения света ССК ФС2. Это может быть компенсацией недостатка хлорофиллов в клетке. Такие изменения в работе ФСА карликовой яблони приводят к сокращению углеводов и других органических веществ в клетке, замедляя рост и развитие растения в це-

лом. Вследствие чего, адаптация к засушливым условиям произрастания на территории Селенгинской Даурии, как к длительно действующему фактору, возможно, является одной из причин образования карликовости яблони сибирской. Хотя, по нашему мнению, резкое снижение количества фотосинтезирующих пигментов в листьях нельзя объяснить только действием умеренной засухи. Скорее всего, в этом случае задействованы другие факторы (генетические, эдафические, экологические).

#### Литература

- Агроклиматические ресурсы Бурятской АССР. – Л.: Гидрометеиздат, 1974. – 176с.  
Мокроносов А. Т. Онтогенетический аспект фотосинтеза. - М.: Наука, 1981. - 196 с.  
Рибейро Р. В. И., Сантос М. Г., и др. Фотохимическая реакция листьев фасоли на тепловой стресс после предварительного водного дефицита // Физиология растений, 2008. - Т. 55, № 3. - С. 387 - 396.  
Kupper H., Seibert S., Parameswaran A. Fast, sensitive, and inexpensive alternative to analytical pigment HPLS: quantification of chlorophylls and carotenoids in crude extracts by fitting with Gauss Peak spectra // Anal. Chem., 2007. – V. 79. - P. 7611 – 7627.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ ДЛЯ РАСТЕНИЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Е.Н. Тараненко<sup>1</sup>, Т.А. Михайлова<sup>1</sup>, А.Г. Горшков<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, elscato@mail.ru

<sup>2</sup>Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, gorchkov\_ag@mail.ru

На фоне большого объема информации о воздействии на растения неорганических поллютантов сведений о влиянии на растения органических загрязнителей значительно меньше. Хотя отечественные работы, посвященные вопросу фитотоксичности органических соединений, начались еще в 1970-1980-е гг., основное внимание в них уделялось пестицидам различных групп [Угрехелидзе, 1976; Воеводин и др., 1979]. Что касается полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), то в основном исследовалось воздействие бенз(а)пирена как наиболее токсичного представителя полиароматического ряда, по этой же причине в нашей стране именно бенз(а)пирен принято использовать в качестве индикатора присутствия ПАУ в природных объектах. Однако относительное содержание бенз(а)пирена в сумме всех ПАУ, присутствующих в природных средах, невелико, кроме того, некоторые соединения этого класса по токсичности практически не уступают бенз(а)пирену, другие же могут оказывать сильное негативное воздействие на биоту за счёт большего относительного содержания их в техногенных эмиссиях [Ровинский и др., 1988]. В связи с этим представляется актуальным исследовать степень токсичности для растений и других представителей ПАУ Данный класс органических соединений характеризуется наличием в структуре молекул двух и более конденсированных бензольных ядер и отличается ярко выраженными липофильными свойствами. В биосферу ПАУ поступают как из природных источников, так и в результате деятельности человека. Основные антропогенные источники ПАУ – практически все важнейшие отрасли промышленности: металлургическая, коксохимическая, нефтехимическая, а также теплоэнергетика и автотранспорт. В сравнении с ними вклад естественных источников ПАУ (лесные пожары, вулканическая деятельность, миграция углеводородов из нефтяных залежей), как правило, незначителен.

В атмосфере, в зависимости от температуры окружающей среды, ПАУ сорбируются на взвешенных частицах, становясь компонентом атмосферного аэрозоля, либо

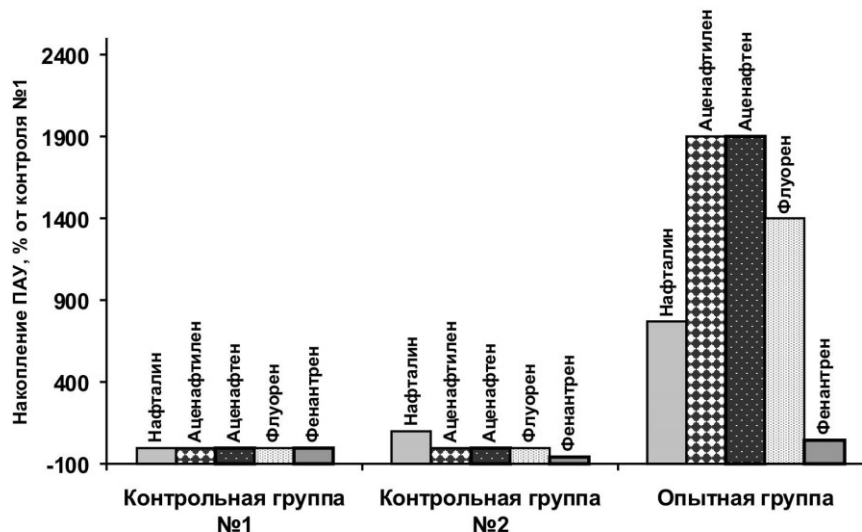
существуют в свободном состоянии в газообразной форме, в любом случае они могут переноситься воздушными потоками на дальние расстояния. Седиментация частиц аэрозоля из атмосферного воздуха и сорбция газообразных ПАУ липофильными субстанциями приводят к проникновению полиаренов в другие компоненты биосферы. Липофильность соединений, входящих в состав кутикулы, способствует сорбции ПАУ растениями, поэтому виды, обладающие мощным восковым покровом, выступают в роли природных аккумуляторов ПАУ. Так, было установлено, что выраженными аккумуляционными свойствами в отношении ПАУ обладает хвоя сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), поглощающая ПАУ как из аэрозольной, так и из газовой фазы атмосферы [Горшков и др., 2006].

В наших ранее проведённых исследованиях было показано пространственное распространение техногенного загрязнения лесов Байкальского региона ПАУ [Горшков и др., 2008]. Результаты этих исследований во многом свидетельствуют о наличии фитотоксического эффекта ПАУ, поскольку были выявлены тесные прямые корреляции не только между уровнем загрязнения атмосферного воздуха ПАУ и накоплением этих веществ в хвое сосны, но также между содержанием ПАУ в хвое деревьев и степенью их угнетения. Для подтверждения этих зависимостей потребовались модельные эксперименты, которые бы показали наличие прямого фитотоксического эффекта ПАУ. С этой целью нами была применена искусственная обработка молодых деревьев сосны обыкновенной этими соединениями.

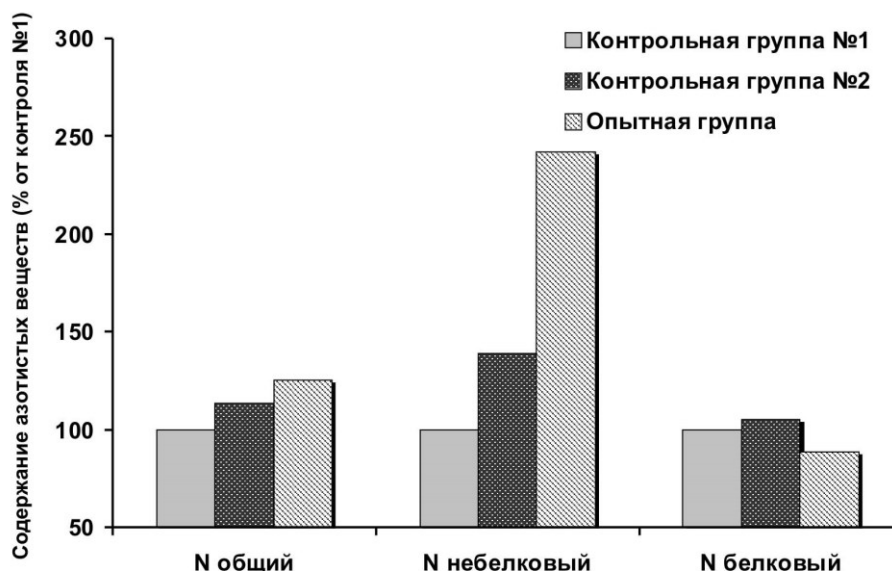
Обработка деревьев ПАУ проводилась на экспериментальном участке на территории Лимнологического института СО РАН. В опытах использовались плёночные камеры объёмом 1 м<sup>3</sup>, в которые высаживали деревья сосны 8-10-летнего возраста. В течение вегетационного периода опытные деревья опрыскивались 1% водным раствором метанола, содержащим смесь ПАУ в следующих концентрациях: нафталин – 37 нг/мл, аценафтилен – 28 нг/мл, аценафтен – 38 нг/мл, флуорен – 23 нг/мл, фенантрен – 20 нг/мл. В состав смеси были включены ПАУ, присутствующие в атмосферном воздухе в свободном состоянии и способные проникать внутрь растения при транспирации. Концентрации веществ подбирались с учётом данных об их содержании в воздухе над промышленными территориями региона. Обработка проводилась ежедневно однократно в утренние часы. Воздействие на растения оценивалось по сравнению параметров опытных и контрольных деревьев. При этом контрольную группу №1 составляли деревья в камерах, не подвергающиеся обработке, а контрольную группу №2 – деревья в камерах, обрабатываемые водным раствором метанола (1%), который использовался в качестве растворителя для смеси ПАУ. По завершении эксперимента образцы хвои 2-го года анализировали на содержание ПАУ, фотосинтетических пигментов, фосфора, азота (общего, белкового и небелкового) и некоторых элементов.

Полученные результаты показали превышение содержания ПАУ в хвое опытных деревьев в сравнении с контролем от 1,5 до 20 раз (рис. 1). При этом максимальное накопление было отмечено для аценафтена и аценафтилена, концентрации которых в хвое деревьев опытной группы повышались в 20 раз. Концентрация флуорена превысила контрольные значения в 15 раз. Концентрация нафталина увеличилась более чем в 8 раз по сравнению с контролем. Наименьшее накопление отмечено для фенантрена.

В образцах хвои сосны опытной группы было отмечено повышение содержания общего азота и его небелковой фракции, а также снижение уровня белкового азота (Рис. 2), содержания каротиноидов и суммы хлорофиллов на 20% и 18%, соответственно. При сравнении с контрольной группой № 1 содержание хлорофилла *a* снизилось на 24%, а хлорофилла *b* – на 14%. При сравнении с контрольной группой №2 содержание каротиноидов снизилось на 16%, в то время как сумма хлорофиллов незначительно увеличивалась.



**Рис. 1. Накопление ПАУ хвоей сосны после искусственной обработки деревьев в плёночных камерах.**



**Рис. 2. Изменение содержания азотистых веществ в хвое сосны после искусственной обработки деревьев ПАУ.**

Существенных изменений в содержании фосфора общего в эксперименте выявлено не было: в хвое опытных деревьев его концентрация снижалась незначительно в сравнении с контролем №1.

В целом наблюдаемые изменения исследованных параметров хвои деревьев сосны, подвергшихся искусственной обработке, свидетельствуют о наличии негативного воздействия, оказываемого ПАУ. Исследования планируется продолжить.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №12-04-31036 мол\_а).*

#### Литература

Воеводин А.В., Невзорова Л.И., Казарина Е.М. Влияние 2,4-Д на рост тканей и нуклеиновые кислоты пшеницы и ячменя // В кн.: Растения и химические канцерогены. – Л.: Наука, 1979 – С. 28–31

Горшков А.Г., Михайлова Т.А., Бережная Н.С. и др. Хвоя сосны как тест-объект для оценки распространения органических поллютантов в региональном масштабе // Доклады Академии наук, 2006. – Т. 408. – № 2. – С. 247-249.

Горшков А.Г., Михайлова Т.А., Бережная Н.С. и др. Накопление полициклических ароматических углеводов в хвое сосны обыкновенной на территории Прибайкалья // Лесоведение, 2008. – № 2. – С. 21-26.

Ровинский Ф.Я., Теплицкая Т.А., Алексеева Т.А. Фоновый мониторинг полициклических ароматических. – Л.: Гидрометеиздат, 1988. – 224 с.

Угрехелидзе Д.Ш. Метаболизм экзогенных алканов и ароматических углеводов в растениях. – Тбилиси: Мицниереба, 1976. – 246 с.

## **ФИТОИНДИКАЦИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО РЕЖИМА ЭКОТОПА СОСНЯКОВ РАЗНОТРАВНЫХ ВЕРХНЕ-ОБСКОГО МАССИВА**

И.В. Фуряев<sup>1</sup>, С.Д. Самсоненко<sup>2</sup>, В.В. Фуряев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, furya\_i@mail.ru

<sup>2</sup>Управление лесами Алтайского края, Барнаул, mail@altailes.ru

Сосняки разнотравные расположены в понижениях рельефа с небольшими уклонами. Произрастают на дерново-подзолистых супесчаных и суглинистых почвах с развитым травяным покровом. Гранулометрический состав этих почв более тяжёлый, чем под сосняками мшисто-ягодными. В гумусово-элювиальном горизонте А<sub>1</sub> почва имеет серую окраску, землисто-комковатую структуру, сильно пронизанную корнями. Мощность этого горизонта достигает 30 см. Переход в элювиальный горизонт резкий по окраске и структуре. Микрорельеф и нанорельеф не выражены. Глубина залегания грунтовых вод до 2-х м. По лесорастительным свойствам эти почвы богаче борových песков, поэтому на них произрастают наиболее продуктивные насаждения I - II классов бонитета.

Методом накопленных частот растений индикаторов мы исследовали следующие экологические факторы: проточность, наносность, длительность подтопления почвенно-грунтовыми водами, трофность. Точкованием на шкалу (ступени) наносили встречаемость всех видов растений. Пик графика показывал по каждому экологическому режиму ступень, где частоты индикаторов были максимальными. Этот метод учитывает индикационное значение не только доминантов, но всех растений сообщества по «большинству голосов». Он является наиболее объективным фитоиндикационным методом оценки экологических режимов лесных земель (Киреев, 1977; Киреев, Сергеева, 1995).

В результате анализа и обобщения частоты встречаемости фитоиндикаторов для исследуемых экосистем были получены формулы экологических режимов с соответствующими градациями каждого экологического фактора.

Как следует из графика на рисунке 1, наибольшее количество накопленных частот встречаемости принадлежит растениям - индикаторам, характеризующим экотоп с сильно выраженной степенью проточности (П<sub>3</sub>). Близки к этой группе по встречаемости растения, индицирующие среднюю степень проточности. Примерно одинаковым количеством представлены растения, показывающие слабую степень проточности или полное отсутствие воздействие этого фактора.

Весьма пестрая картина наблюдается в количестве растений индицирующих ступени наносности (рис. 2.). В этом случае преобладают растения, характеризующие экотоп со слабо выраженной наносностью (Н<sub>1</sub>), но значительное количество их, судя по



накопленным частотам встречаемости, характеризует либо отсутствие либо среднюю степень выраженности воздействия этого фактора. Проточность вод обуславливает наличие наносности, хотя и слабой степени выраженности ( $H_1$ ).

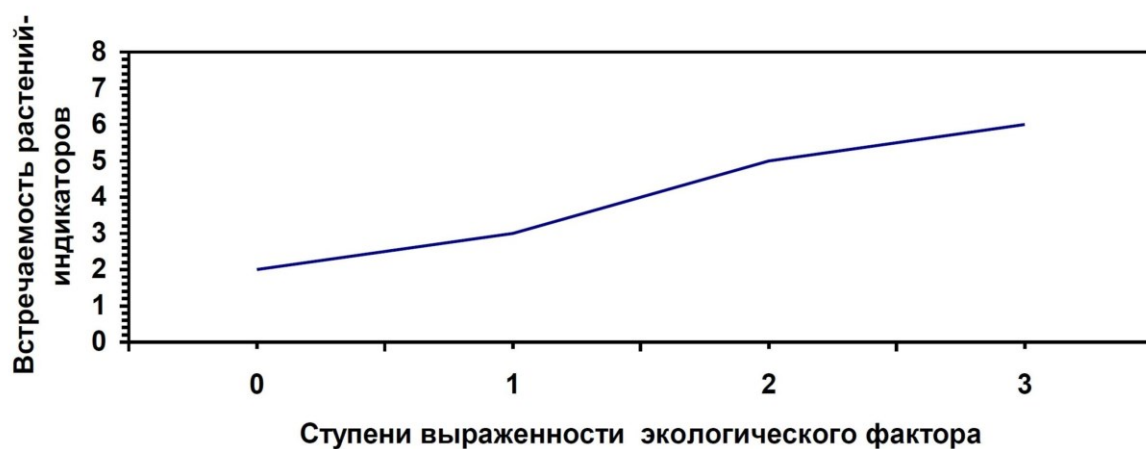


Рис. 1. Определение ступеней проточности экотопа сосняка разнотравного.

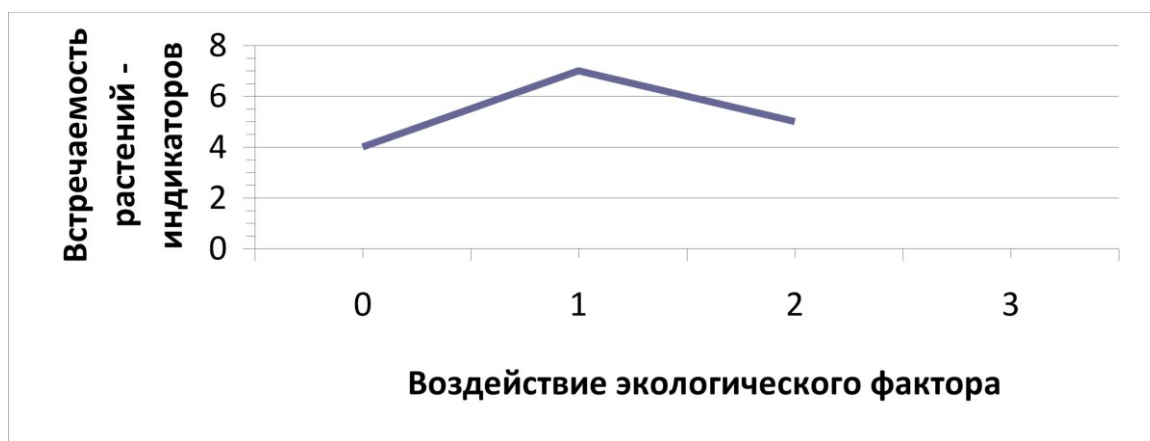


Рис. 2. Определение ступеней наносности экотопа сосняка разнотравного.

Как видно из графика на рисунке 3, большинство растений показало отсутствие фактора затопляемости и лишь незначительное их количество относится к видам, способным произрастать в условиях затопляемости или поемности.

Как отмечалось ранее, важным фактором, определяющим пожарную опасность лесных и болотных экосистем является уровень грунтовых вод (Фурьев, 1970; Валендик, Софронов, Волокитина, 1972). Этот вывод указывает на влияние этого фактора на структуру и влагосодержание напочвенных лесных горючих материалов, а также на формирование их комплексов. Наши наблюдения показывают, что на экологический режим экотопа сосняков разнотравных воздействие подтопления почвенно-грунтовыми водами характеризуется в наибольшей степени индексом «2», что соответствует средней ступени ( $\Gamma_2$ ). Однако, судя по накопленным частотам встречаемости, в этом же экотопе представлены группы растений индицирующие и отсутствие подтопления и ее слабую и сильную степень воздействия. На наш взгляд, это можно объяснить динамикой уровня грунтовых вод в весенний, летний и осенний периоды вегетационного сезона, что стимулирует произрастание в экотопе растений индицирующих разные ступени воздействия этого экологического фактора.

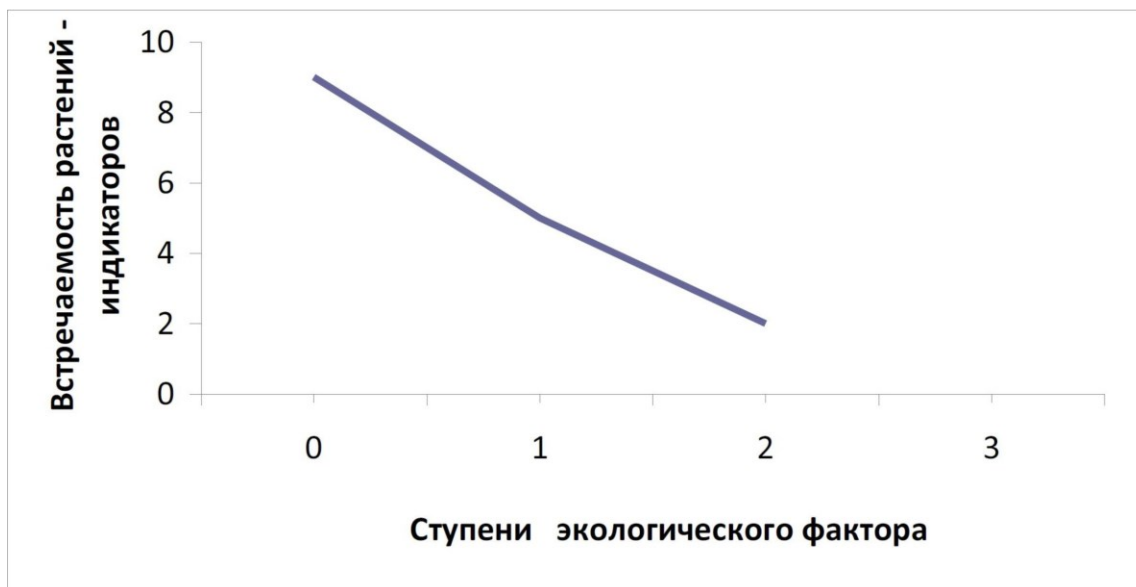


Рис. 3. Определение ступеней затопляемости экотопа сосняка разнотравного.

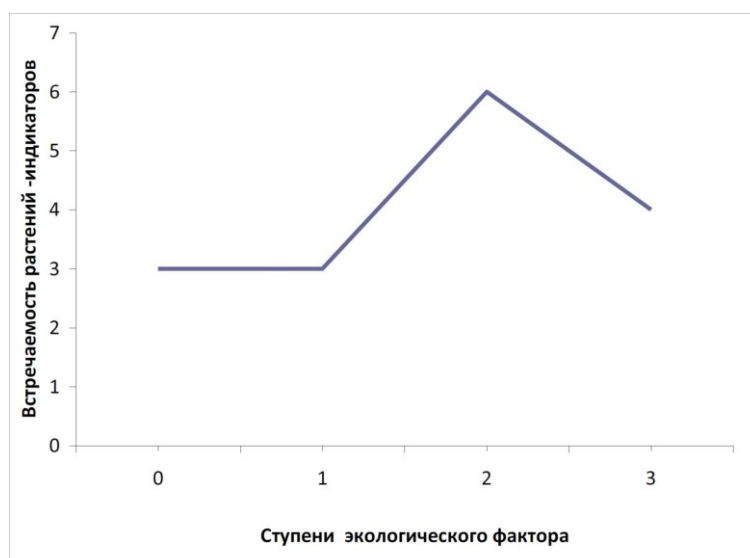


Рис. 4. Определение ступеней подтопления экотопа сосняка разнотравного.

Степень экологического воздействия этого фактора обусловлена расположением экотопа в понижении рельефа с уклоном поверхности и относительно близком залегании грунтовых вод.

Пятым экологическим фактором, определяющим экологический режим экотопов, нами рассматривается их трофность. Как следует из графика на рисунке 5, накопленные частоты встречаемости растений - индикаторов «большинством голосов» указывают на трофность экотопа, характеризующегося индексом D, что по принятой градации соответствует богатым и влажным условиям местопроизрастания. Оно определяется богатством отложений, почвообразующих и подстилающих пород, а также корнедоступных почвенно-грунтовых вод. В напочвенном покрове сосняков разнотравных, как показывает флористический список растений, господствуют мегатрофы с участием мезотрофов (Куприянов, Шершнева, 2006, а, б, с; Куприянов, Стрельникова, Шершнева, 2007).

Общая формула экологического режима экотопа сосняков разнотравных выражается как  $\underline{П_3Н_1З_0Г_2D}$ . (табл.).

Из формулы следует, что в экотопах сосняков разнотравных наиболее сильной

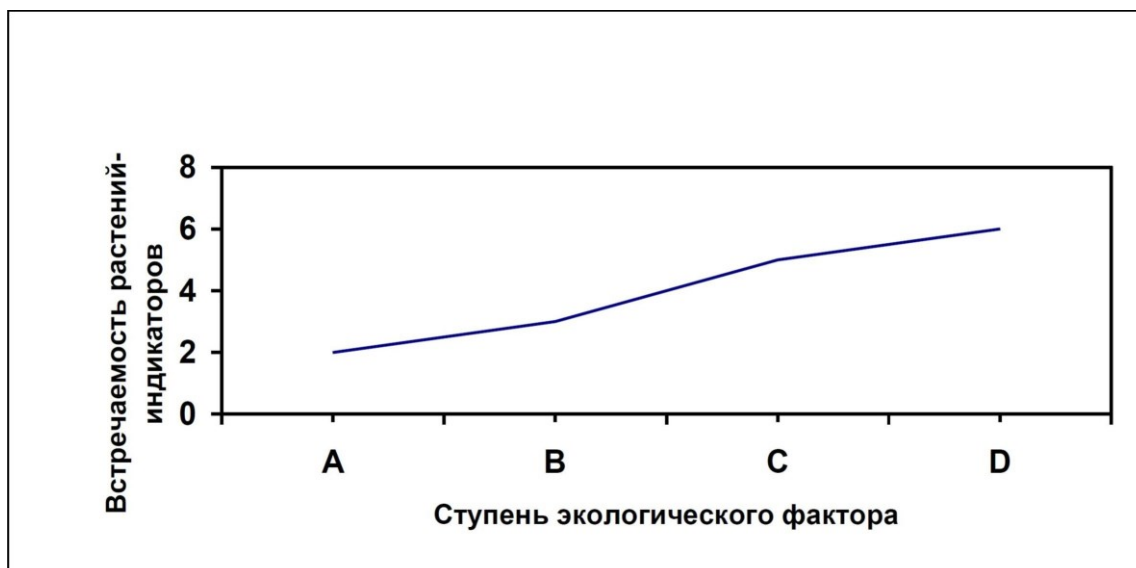


Рис. 5. Определение ступеней трофности экотопа сосняка разнотравного

Таблица

Экологический режим экотопа сосняков разнотравных

Экологический фактор	Степени экологических режимов
Проточность (П)	П <sub>3</sub>
Наносность (Н)	Н <sub>1</sub>
Затопляемость (З)	З <sub>0</sub>
Длительность подтопления почвенно-грунтовыми водами (Г)	Г <sub>2</sub>
Трофность	D
Формула экологического режима экотопа	П <sub>3</sub> Н <sub>1</sub> З <sub>0</sub> Г <sub>2</sub> D

степенью воздействия на фитоценоз и условия формирования комплексов напочвенных ЛГМ характеризуются четыре экологических фактора: сильно выраженная проточность (П<sub>3</sub>), слабая наносность (Н<sub>1</sub>), средняя степень воздействия грунтовых вод (Г<sub>2</sub>) и богатый питательный субстрат корнеобитаемого слоя почвы (D).

#### Литература

Валендик Э.Н., Софронов М.А., Волокитина А.В. Способ определения пожарной опасности в лесу. Авторское свидетельское № 133433, 1972.

Киреев Д.М. Метод индикаторов // Методы изучения лесов по аэроснимкам. Новосибирск: Наука, 1977. – С. 53-84.

Киреев Д.М., Сергеева В.Л. Экологическая оценка и картографирование земель Красноярского края. Москва.: ВНИИЦлесурс, 1995. – 33 с.

Куприянов А.Н., Шершнева В.И. Восстановление сосновых лесов после рубок в Верхне-Обском бору // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. Кемерово, Барнаул: 2006, вып. 12. – С. 60-65.

Куприянов А.Н., Стрельникова Т.О., Шершнева В.И. Антропогенное изменение в структуре травяного покрова Верхне-Обского бора // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. Кемерово: 2007, вып. 13. – С. 105-110.

Фуряев В.В. Влияние уровня грунтовых вод на пожарное созревание заболоченных и болотных лесов Кеть-Чулымского междуречья // Вопросы лесной пирологии. Красноярск: 1970. – С. 155-186.

## СУКЦЕССИОННЫЕ СТАДИИ ЭПИКСИЛЬНЫХ ЛИШАЙНИКОВ В ЛЕСНЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ РЕСПУБЛИКИ БУРЯТИЯ

Т.М. Харпухаева

Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, takhar@mail.ru

Сукцессии эпиксильных лишайников изучались на пробных площадях в трех типах лесных фитоценозов: пихтовые леса хр. Хамар-Дабан (ур. Бушалай) (вырубка и контроль), мерзлотные лиственничные и склоновые сосновые леса долины р. Ина (Икатский хр.) в Кабанском и Баргузинском районах республики. Валежник различался по происхождению (порубочные и естественные остатки). Основные древесные породы в пробных площадях на хр. Хамар-Дабан составляли пихта (*Abies sibirica* Ledeb.) и реже кедр (*Pinus sibirica* Du Tour), на пробных площадях в долине р. Ина – лиственница Гмелина (*Larix gmelinii* Rupr.) и сосна (*Pinus sylvestris* L.).

Всего было выявлено 55 видов лишайников, представленных на пробных площадях (см. табл.) на валежнике различных степеней разложения. Это немного по сравнению с пихтой, основным лесообразующим видом на хр. Хамар-Дабан для которого И.Н. Урбанавичене [2001] приводит 165 эпифитных видов лишайников. На исследованных пробных площадях – ленточных вырубках видовой состав эпиксильных лишайников беден.

Эпифитные лишайники предваряют первую степень разложения. Такие виды как *Bryoria nadvornikiana* (Gyeln.) Brodo et D. Hawksw., *Bryoria furcellata* (Fr.) Brodo et D. Hawksw., *Tuckermanopsis ciliaris* (Ach.) Gyeln., *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., *Usnea glabrescens* (Nyl. Ex Vain.) Vain., *Evernia esorediosa* (Müll. Arg.) Du Rietz, преобладают на свежеспаваленном валежнике, когда сохраняются кора, структура и плотность живой древесины.

При I степени разложения, когда древесина не утратила свою твердость, сохраняются кора и ветви [Климченко, 2005], состав лишайников меняется незначительно, сохраняются вышеуказанные эпифиты, к которым добавляются виды, встречающиеся на живых деревьях и на валежнике с одинаковой частотой: *Mycoblastus affinis* (Schaer.) Schauer, *Vulpicida pinastri* (Scop.) J.-E. Mattson et Lai, *Imshaugia aleurites* (Ach.) S. L. F. Meyer, *Parmeliopsis ambigua* (Wulfen) Nyl., *Japevia tornoenis* (Nyl.) Tønsberg. Но если поселяются грибы порядка *Aphellophorales* либо другие ксилотрофы, I степень быстро переходит во 2 и 3 степень.

При II степени разложения эпифитные лишайники исчезают вместе с отслаивающейся корой. Сухая поверхность древесины заселяется видами рода *Calicium*: *C. denigratum* (Vain.) Tibell., *C. trabinellum* (Ach.) Ach., *C. glaucellum* Ach., *C. lenticulare* Ach. Если поверхность валежника сухая, на нем вторично поселяются эпифитные виды родов *Bryoria* и *Usnea*, ювенильные особи которых часто можно обнаружить там. Из видов рода *Cladonia*, на сухой поверхности произрастает фотофильный вид *C. botrytes*, на влажной поверхности появляются первичные слоевища без подоцций *C. coniocraea*, *C. praxidata* и др. и слоевища *Trapeliopsis granulosa* (Hoffm.) Lumbsch.

III степень – древесина почти полностью утратила плотность, на стволах в небольшом количестве имеются крупные ветви [Климченко, 2005].

В переходный период между II и III степенями разложения появляются виды, характерные для гниющей древесины – *Bacidia subincompta* (Nyl.) Arnold, *Calicium lenticulare* Ach. *Cladonia digitata* (L.) Hoffm., *Cladonia macilenta* Hoffm., *Cladonia botrytes* (K. G. Hagen) Willd., *Cladonia pleurota* (Flörke) Schaer., *Cladonia cenotea* (L.) Schaer., *Cladonia deformis* (L.) Hoffm., *Cladonia coniocraea* (Flörke) Schaer., *Vulpicida pinastri* (Scop.) J.-E. Mattson et Lai.

На валежнике III-IV степени разложения обнаружены виды *Micarea prasina* Fr., *Micarea melaena* (Nyl.) Hedl., *Bacidina inundata* (Fr.) Vězda. Эти гигромезофитные накипные виды найдены на нижней стороне бревен, либо на поверхности среди талломов *Cladonia botrytes* (K. G. Hagen) Willd., *Cladonia coniocraea* (Flörke) Schaer., *Cladonia macilenta* Hoffm., *Cladonia chlorophaea* (Flörke ex Sommerf.) Spreng., которые вытесняют предшествующие им виды *Micarea*.

IV степень разложения – древесина теряет структуру, рассыпается в труху. К этому времени на поверхности скапливается слой мелкозема, валежник зарастает мхами и на нем появляются кустистые виды рода *Cladonia*, характерные для почвы: *C. amaurocraea* (Flörke) Schaer., *C. arbuscula* (Wallr.) Flot., *C. rangiferina* (L.) Weber ex F. H. Wigg., *Cladonia stellaris* (Opiz) Pouzar et Vězda

Таким образом, можно выделить следующие стадии сукцессий. 1 стадия – эпифитная (прижизненная). Синузии образуют кустистые виды *Usnea fragilescens* Hav. ex Lyng., *Usnea subfloridana* Stirt., *Bryoria furcellata* (Fr.) Brodo et D. Hawksw., *Tuckermopsis ciliaris* (Ach.) Gyeln., *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., *Evernia mesomorpha* Nyl., *Evernia esorediosa* (Müll. Arg.) Du Rietz, *Vulpicida pinastri* (Scop.) J.-E. Mattson et Lai, *Imshaugia aleurites* (Ach.) S. L. F. Meyer, *Parmeliopsis ambigua* (Wulfen) Nyl., *Japevia tornoensis* (Nyl.) Tønsberg. и др.

2 стадия сукцессии с опадением коры сопровождается выпадением эпифитов, появлением первичных слоевищ *Cladonia*, *Trapeliopsis granulosa* (Hoffm.) Lumbsch. и талломов *Lecanora cf. saligna* (Schrad.) Zahlbr., *Lecanora symmicta* (Ach.) Ach. Довольно густо расположены талломы видов *Calicium*, которые быстро осваивают новый субстрат: *C. denigratum* (Vain.) Tibell., *C. trabinellum* (Ach.) Ach., *C. glaucellum* Ach., *C. lenticulare* Ach. Виды образуют отдельные дернинки, которые не соприкасаются и об синузиях не может идти речи, скорее как о начале новой сукцессии.

Накипные виды *Micarea melaena*, *Bacidia subincompta*, *Trapeliopsis granulosa* и др., осваивающие новый субстрат – обнаженную древесину, вскоре вытесняются кустистыми видами, характерными для валежника, такими как *Cladonia digitata*, *Cladonia macilenta*, *Cladonia botrytes*, *Cladonia deformis* (III степень). Здесь формируются сомкнутые сообщества, собственно синузии эпиксильных видов. Следующим этапом служит обогащение видового состава вкуче с окончательным разложением древесины на IV степени разложения. Здесь формируются синузии эпигейных кустистых лишайников.

Весь ход эпиксильной сукцессии можно описать, как постепенное увеличение числа напочвенных видов при изменении самого субстрата. Субстрат постепенно превращается в элемент лесной подстилки, а эпиксильная растительность полностью замещается напочвенной. Таким образом, в сукцессиях эпиксильных лишайников происходит полный цикл развития с полной сменой видов и который завершается с разложением древесины. Этот субстрат, хоть и связан своим происхождением живым деревьям, все является отличным от форофита субстратом.

#### Литература

Климченко А.В. Аккумуляция углерода в валежнике лиственничников северной тайги и средней Сибири // Лесное хозяйство. 2005, №5. С. 33-34.

Урбанавичене И. Н. Экология эпифитных лишайников, произрастающих на *Abies sibirica* в южном Прибайкалье // Бот. журн. Т.86. № 9. С. 80-89.

## ДЕНДРОФЛОРИСТИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ ВЫСОТНОЙ ПОЯСНОСТИ ЛАНДШАФТОВ ЗАПАДНОГО ПРИБАЙКАЛЬЯ

С.И. Шаманова

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, shamanova@sifibr.irk.ru

По характеру структурной дифференциации растительность Прибайкалья уникальна, что проявляется в наличии на относительно небольшой территории широкого спектра растительных ассоциаций, представляющих генетически различные типы растительности и их разнородные таксономические группы. Для Прибайкалья характерно большое количество флористических и фитоценологических рубежей, имеющих важное геоботаническое значение, что определяется положением региона на стыке природно-биогеографических областей: Среднесибирской плоскогорной таежной, Байкало-Джугджурской гольцово-горно-таежной и Южно-Сибирской горно-таежной. Горный рельеф и климат обеспечивают сложную пространственную структуру растительного покрова, основой которой является высотная поясность ландшафтов.

Базовая структура высотной поясности ландшафтов выделяется на основе геоморфологических индикаторов: ярусы и морфология рельефа, характер геоморфологических процессов [Кузьмин, Шаманова, 2012]. Но рельеф является статичным показателем и отражает эволюционные изменения ландшафта, возникающие в результате смены доминирующего ландшафтообразующего фактора или изменения инвариантной структуры ландшафта. Такие изменения происходят за тысячи и десятки тысяч лет. Динамика ландшафта в пределах его инвариантной структуры отражает изменения, происходящие за десятки и сотни лет, индикаторами которых выступает растительность, прежде всего, древесная. Ее характер позволяет изучать структурно-динамические изменения высотных поясов ландшафтов, поскольку каждый из них имеет специфический набор видов дендрофлоры как в современной структуре, так и на отдельных этапах ее динамики и эволюции. Нами изучен характер дендрофлоры в высотных поясах Приморского хребта в Западном Прибайкалье [Кузьмин, Шаманова, Казановский, 2012].

Установлено, что общий характер растительности следующий.

**Водораздельный пояс** (1650-1300 м) представлен безлесными ландшафтами полого-увалистых вершин и плоских водоразделов с моховой, лишайниковой, луговой и лугово-болотной тундрами. «Сырые» горные тундры развиваются в седловинах, «сухие» – на поднятиях с пятнистой мохово-лишайниковой растительности и редкими куртинами низкорослых берез (*Betula rotundifolia* Spach). Часто поднятия совсем лишены растительности. Лишайниковый покров «сухих» тундр на поднятиях хорошо развит в виде шиловидных, роговидных, кубковидных или кустистых образований. Встречаются куртины шикши (*Empetrum nigrum* L.), а среди каменных россыпей – дриады (*Dryas grandis* Juz., *D. oxyodonta* Juz.). Луговины связаны с хорошим проточным увлажнением и развиваются близ снежников за счет их таяния. Для этих ландшафтов обычны осоково-моховая и кустарничково-моховая тундры.

**Склоновый пояс приводораздельно-подгольцовый (верхний отдел)** (1300-1000 м) представлен ландшафтами крутых подгольцовых склонов с осыпями и курумниками, переходящими в пологий приводораздельный макросклон Приморского хребта с зарослями кедрового стланика (*Pinus pumila* (Pall.) Regel), можжевельника (*Juniperus communis* L., *J. sibirica* Bugsd.), голубики (*Vaccinium uliginosum* L. s. str.), смородины душистой (*Ribes fragrans* Pall.) и ерниками (*Betula divaricata* Ledeb., *B. exilis* Sukaczew). Далее на пологом склоне они переходят сначала в мелколиственные с лиственницей (*Larix sibirica* Ledeb.) и пихтой (*Abies sibirica* Ledeb.) переувлажненные леса с участием

мхов и багульника болотного (*Ledum palustre* L. s. str.), а затем – в преимущественно в лиственнично-кедровые (*Pinus sibirica* Du Tour) с пихтой более сухие низкотравно-зеленомошные леса с брусникой (*Vaccinium vitis-idaea* L. s. str.). Вдоль зарождающихся русел рек, стекающих с Приморского хребта, распространены кашкарники (*Rhododendron aureum* Georgi) и тальники (*Salix krylovii* E. Wolf, *S. glauca* L., *S. lanata* L.). Вдоль русел ручьев отмечаются небольшие лесные массивы из ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.), частично заболоченные багульниково-сфагновые (*Oxycoccus palustris* Peps.).

**Склоновый пояс горных отрогов и поперечных долин (средний отдел)** (1200-700 м) представлен ландшафтами горных отрогов с венчающими их гребнями, крутых склонов с обрывами и V-образных речных долин с таежными темнохвойными кедровыми и лиственнично-кедровыми лесами с пихтой и елью на верхних этажах пояса и сосновыми лесами (*Pinus sylvestris* L.) с кедром на гребнях и крутых склонах. На верхних этажах пояса, на склонах средней крутизны и пологих верховьях речных долин произрастают кедровые леса с примесью лиственницы, а в речных долинах – ельники разнотравно-брусничные зеленомошные и пихтарники черничные (*Vaccinium myrtillus* L.), еловые редколесья с примесью березы пушистой (*Betula pubescens* Ehrh.) по ерничково-сфагновым болотам и сухим берегам ручьев. На горных отрогах с гребнями и крутыми склонами произрастает сосновый лес с кедром и лиственницей. Из кустарников встречаются ива копьевидная (*Salix hastata* L.), жимолость Палласа (*Lonicera pallasii* Ledeb.), смородина колосистая (*Ribes spicatum* E. Robson), линнея северная (*Linnaea borealis* L.).

В V-образных речных долинах отмечаются сосново-кедрово-лиственничные леса на склонах, а на дне долин – заросли жимолости (*Lonicera pallasii* Ledeb.), кизильника (*Cotoneaster melanocarpus* Fisch. ex Blytt), смородины (*Ribes nigrum* L.) и таволги (*Spiraea flexuosa* Fisch. ex Cambess., *S. media* Franz Schmidt) с тальниками (*Salix jenisseensis* (Fr. Schmidt) B. Floder., *S. rhamnifolia* Pall. s. str., *S. triandra* L.). В самых нижних этажах пояса при выходе речных долин на прибайкальскую равнину встречаются вейниково-разнотравные и редкотравные топольники с примесью сосны, кедра и лиственницы.

**Склоновый пояс эскарпов-обрывов (нижний отдел)** (1000-600 м) представлен ландшафтами крутого обрывистого склона-эскарпа вдоль Приморского хребта с мелкодерновинно-злаковыми, низкоразнотравно-полынными и полынно-разнотравно-злаковыми степями. В некоторых местах в редких западинах на склоне отмечаются единичные взрослые деревья и поросли или небольшие по площади разреженные ценозы из сосны обыкновенной и лесными видами растений в травяном напочвенном покрове. Из кустарников произрастают караганы (*Caragana pygmaea* (L.) DC., *C. microphylla* (Pall.) Lam.) и кизильник одноцветковый (*Cotoneaster uniflorus* Bunge).

**Пояс предгорных прогибов** (700-600 м) представлен ландшафтами предгорного прогиба у подножия Приморского хребта с остепненными лиственничными, лиственнично-сосновыми и сосновыми редколесьями подтаежного типа в сочетании с мелкодерновинно-злаковыми и низкоразнотравными степями. На бывших гарях и вырубках значительно участие мелколиственных пород деревьев, часто образующих сомкнутый древостой, формируется кустарниковый ярус из рододендрона даурского (*Rhododendron dauricum* L.), шиповника иглистого (*Rosa acicularis* Lindley), смородины таранушки (*Ribes diacantha* Pall.), таволги средней, кизильника черноплодного.

**Пояс холмисто-увалистых плато** (800-500 м) представлен ландшафтами ксерофитных остепненных лесов и степей. Первые развиты на северных склонах и водоразделах и представлены редкостойными лиственничными (*Larix czekanowskii* Szaf.) разнотравно-зеленомошными лесами с сосной с подростом и подлеском из рододендрона даурского и хвойника односеменного (*Ephedra monosperma* C.A. Mey.), а также сосно-

во-лиственничными багульниково-брусничными и разнотравными редколесьями. В нижних частях склонов, со сменой экспозиции и выполаживанием поверхности происходит резкий переход к степным сообществам, которые занимают также лощины и пади. Присутствие в ландшафтах карбонатных пород способствует развитию степной растительности даже на увлажненных участках. В поймах и по берегам рек доминируют ивы (*Salix rhamnifolia* Pall., *S. dasyclados* Wimm., *S. bebbiana* Sarg.) и другие кустарники (*Ribes diacantha* Pall., *R. nigrum* L., *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz).

**Предгорно-равнинный пояс** (500-465 м) представлен ландшафтами дна речных долин и пологого предгорного делювиального шлейфа вдоль Приморского хребта с осоково-разнотравными лугами, кустарниковыми зарослями террас и высокой поймы, лентами мелколиственных пород деревьев (*Populus tremula* L., *Betula alba* L., *B. pendula* Roth, *Sambucus manshurica* Kitag.), вдоль низкой поймы и русел рек. В речных долинах на низкой пойме развиты ерниковые (*Betula fruticosa* Pall. s. str., *B. humilis* Schrank) и ивовые заросли (*Salix pyrolifolia* Ledeb., *S. kochiana* Trautv., *S. brachypoda* (Trautv. et C.A. Mey.) Kom.), на высокой пойме и террасах – заросли из малины сахалинской (*Rubus sachalinensis* Levl.), смородины колосистой и таволги извиистой.

**Прибрежно-равнинный пояс** (465-455 м) представлен ландшафтами прибрежных равнин озера Байкал, устьев рек, волноприбойных кос и баров, субаквальных прибрежных и аквальных форм с кустарниковой (*Duschekia fruticosa* (Rupr.) Pouzar, *Salix pseudopentandra* (B.Floder.) B.Floder.) и лугово-болотной растительностью.

Такая специфика высотной поясности ландшафтов обусловлена: 1) проявлением барьерно-теневого, аридно-котловинного и подгорного эффектов; 2) взаимопроникновением горнотаежных и горностепных ландшафтов; 3) сочетанием гольцовых, горнотаежных светлохвойных, подгорных лиственничных остепненных и горностепных ландшафтов. В результате формируется сочетание контрастных ландшафтов: североазиатских восточносибирских гольцовых (подгольцовых) и таежных светлохвойных, южносибирских таежных темнохвойных и степных на относительно небольшой территории. Таким образом, для каждого высотного пояса ландшафтов характерен специфический набор видов дендрофлоры, который может использоваться в качестве его дополнительного индикатора для всей территории Западного Прибайкалья.

#### Литература

Кузьмин С.Б., Шаманова С.И. Усовершенствование метода выделения ярусов рельефа на основе его цифровых моделей и характера древесной растительности на примере Западного Прибайкалья // Известия РАН. Серия географическая, 2012. – № 4. – С. 83-92.

Кузьмин С.Б., Шаманова С.И., Казановский С.Г. Определение высотной поясности ландшафтов Западного Прибайкалья на основе анализа рельефа и дендрофлоры // География и природные ресурсы, 2012. – № 4. – С. 137-149.

### ИНДИКАЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ОТРАЖАЮЩИЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧВ И РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

О.В. Шергина

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, sherolga80@mail.ru

На территории Байкальского региона трансформация почвенного покрова и растительности неуклонно ведет к экологически значимым изменениям окружающей среды. В настоящий период для оценки негативного антропогенного воздействия актуаль-



ны экологические исследования с использованием комплекса высокоинформативных индикационных показателей. По нашему мнению, изучение структурной организации системы «почва–растение» и механизмов ее функционирования позволяет адекватно определить устойчивость экосистемы в целом. При этом выбор биогеохимических критериев для экологической оценки является основным базовым звеном, обеспечивающим качество и достоверность научных исследований.

Наши исследования проводятся на территории Байкальского региона с 2000 г. Исследования охватывают техногенно загрязненные, урбанизированные и лесные территории в составе крупной промышленной агломерации (промцентры Иркутск, Шелехов, Ангарск, Усолье-Сибирское, Черемхово). Территория исследований имеет общую протяженность 150 км и располагается в границах одного почвенного округа Иркутско-Черемховской равнины в пределах сосново-березовой лесостепи. Закладка опорных пробных площадей производится в лесных зонах вблизи промышленных предприятий, в лесопарках и городских лесах, а также в естественных лесах региона. На каждой пробной площади подробно изучаются генетические профили почв, состояние древесного яруса и травянистой растительности. Элементный состав почв и растений (более 20 химических элементов) анализируется методами атомно-абсорбционной спектроскопии, пламенной фотометрии, фотоколориметрирования.

Изучение биогеохимических показателей производится по разработанной нами схеме, включающей исследование основных компонентов системы «почва-растение»: ассимилирующая фитомасса древесных растений, органическая подстилка, травяной покров, подземная биомасса, все горизонты генетического профиля почв. Состояние почв и растений рассматривается как интегральный показатель и универсальный критерий, характеризующий устойчивость экосистемы. В своих исследованиях мы применяли комплексный системный подход для получения высокоинформативных результатов [Шергина, Михайлова, 2007].

В ходе проведенных исследований для территорий Байкальского региона, различающихся интенсивностью и масштабом антропогенного воздействия, получены данные о состоянии почв и растений, в том числе о многолетней динамике элементного состава, особенностях профильной геохимической дифференциации основных типов почв, региональных концентрациях элементов в почвах и древесных растениях. Результаты исследований позволили установить, что почва как компонент экосистемы обладает большей устойчивостью к антропогенной нагрузке, чем растительность. В то время как древесные породы, особенно хвойные, являются компонентом, более уязвимым для воздействия антропогенных факторов. Анализ полученных данных позволил выявить ряд индикационных показателей для оценки почв и растений в условиях антропогенного воздействия (таблица).

В наших исследованиях показано, что кислотность среды – значимый фактор при оценке антропогенной нарушенности территорий [Шергина, Михайлова, 2011]. При изучении актуальной кислотности в разных компонентах системы «почва-растение» выявлен тренд к ее снижению при усилении техногенного загрязнения среды (рисунок). В частности, изменение кислотно-основного баланса в сторону подщелачивания особенно характерно для территорий крупных промышленных центров. Этот тренд обнаруживается для гомогенатов хвои, листьев, коры древесных растений, надземной части травянистых растений, корневой биомассы и почвенных суспензий. При анализе данных показано, что изменение кислотности каждого компонента системы вызывает соответствующее изменение этого параметра во всех остальных звеньях системы, причем, уровень корреляции очень высок ( $r = 0,88-0,99$ ).

В условиях антропогенного воздействия обнаружены значительные изменения в составе ППК: уровень обменных форм кальция в верхних горизонтах почв увеличива-

ется по сравнению с фоновым в 1,4–10 раз, магния и калия – в 1,2–2,5 раза, натрия – в 1,2–6 раз. О поступлении этих элементов на поверхность почвы с техногенными выбросами и их дальнейшей вертикальной миграции в почвенном профиле свидетельствуют достоверные корреляционные связи ( $r = 0,75–0,90$ ) между содержанием этих элементов в органической подстилке и в почвенных генетических горизонтах: Ad (гумусово-аккумулятивном), Bt,f (иллювиальном текстурном), C (почвообразующем). Таким образом, изменение содержания обменных катионов  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$  в ППК может достоверно свидетельствовать о нарушении катионнообменной способности почв.

Таблица

**Индикационные показатели системы «почва–растение»**

Биогеохимические параметры и свойства	Перечень индикационных показателей
Визуальные и морфоструктурные	Мощность горизонтов почв, плотность сложения, удельный вес, естественная влажность, пористость, аэрация почв; дефолиация и дехромация крон деревьев, морфометрические показатели побегов деревьев; коэффициенты корреляции между морфоструктурными параметрами крон деревьев и физическими характеристиками почв.
Кислотно-основные	Актуальная, обменная и гидролитическая кислотность.
Гумификационные	Содержание общего углерода и общего азота, соотношение C/N, эмиссия $CO_2$ из верхних горизонтов почв.
Катионообменные	Содержание обменных катионов ( $Ca^{2+}$ , $Mg^{2+}$ , $K^+$ , $Na^+$ ) в составе почвенного поглощающего комплекса (ППК).
Токсикологические	Содержание серы и тяжелых металлов, коэффициент концентрации токсикантов (Kс), показатель суммарного загрязнения (Zс) [Саеt и др., 1990], суммарный почвенно-растительный коэффициент концентрации (SKс), кислотная критическая нагрузка [Posch et al., 1999], коэффициенты корреляции между морфоструктурными параметрами крон деревьев и содержанием элементов-загрязнителей в ассимиляционных органах растений.
Миграционные	Коэффициенты корреляции между содержанием загрязняющих элементов в горизонтах почв и органах растений, коэффициент биологического поглощения [Перельман, 1961].

Выявлено, что сильное токсичное воздействие на почвы и растения оказывают диоксид серы и аэрозоли тяжелых металлов. Обнаружено значительное (до 25 раз) содержание элементов-загрязнителей во всех генетических горизонтах почв. Наличие достоверных корреляционных связей ( $r = 0,61–0,87$ ) между содержанием поллютантов (серы, свинца, кадмия, меди) в горизонтах почв и их концентрацией в хвое и листьях древесных растений подтверждает высокую экологическую значимость этих компонентов в миграции загрязняющих веществ.

Для оценки техногенного загрязнения нами предложено использовать суммарный почвенно-растительный коэффициент концентрации (SKс), который имеет вид:  $SKс = PKс + OKс + ПКс$ , где PKс – Kс токсиканта в органах растений, OKс – в органической подстилке, ПКс – в генетическом профиле почв (этот показатель представляет собой сумму Kс, рассчитанных для разных горизонтов почвенного профиля: гумусовых, иллювиальных, почвообразующих, и выражается формулой:  $ПКс = Kс_{Ad} + Kс_{Bt} + Kс_C$ ). По нашему мнению, этот показатель позволяет наиболее адекватно дифференцировать территории по степени суммарного загрязнения почв и растений.

Таким образом, комплексное и сопряженное изучение почв и растений, а также правильно выбранные индикационные показатели их состояния позволяют провести

высокоинформативную оценку антропогенных изменений в экосистеме.

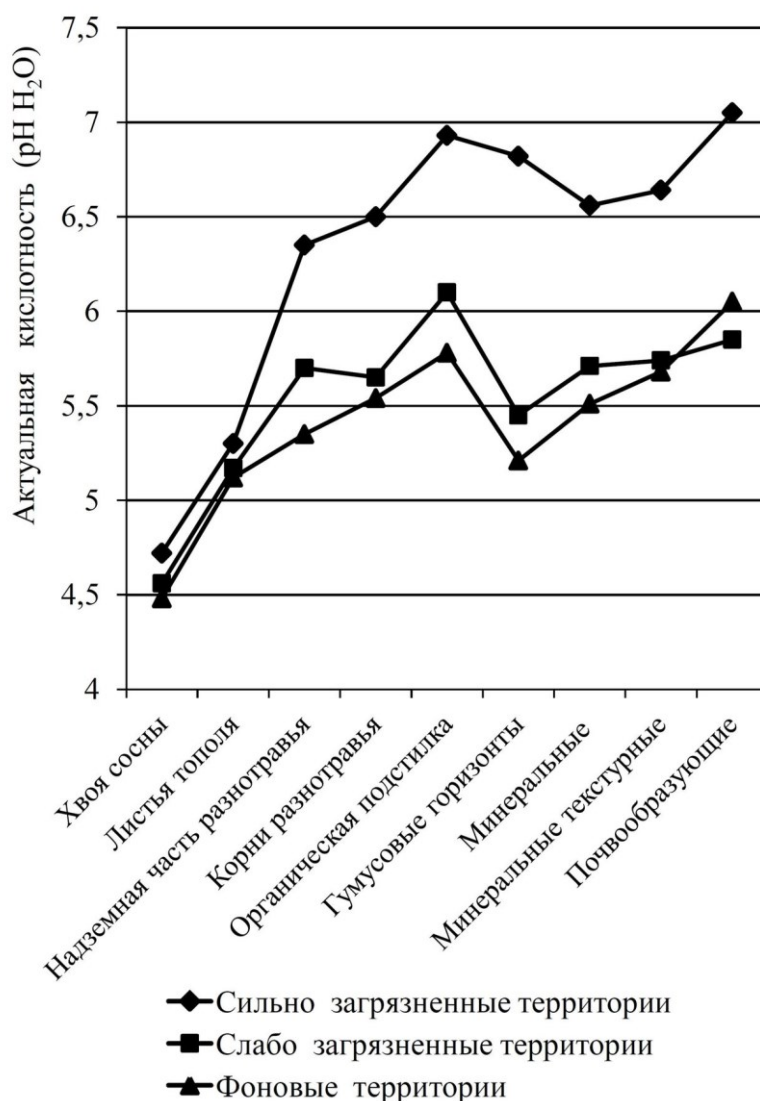


Рис. Изменение кислотности в системе «почва-растение».

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 12-04-31036 мол\_а».

#### Литература

- Перельман А.И. Геохимия ландшафта – М.: Географгиз, 1961.
- Сает Ю.Е., Ревич Б.А., Янин Е.П. Геохимия окружающей среды. – М.: Недра, 1990. – 335 с.
- Шергина О.В., Михайлова Т.А. Состояние древесных растений и почвенного покрова парковых и лесопарковых зон г. Иркутска. – Иркутск: Изд-во Института географии СО РАН, 2007. – 200 с.
- Шергина О.В., Михайлова Т.А. Биогеохимическое перераспределение свинца в урбоэкосистеме (на примере г. Иркутска) // Химия в интересах устойчивого развития, 2011. – Т. 19, № 2. – С. 203–209.
- Posch M., De Smet P.A.M., Hettelingh J-P., Downing R.J. Calculation and Mapping of Critical Thresholds in Europe // Status Report, Netherlands, 1999. – 165 p.

## СЕКЦИЯ 4. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ И ФИТОЦЕНОЗОВ

### ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ДДТ ПРИ ПОЧВЕННОМ МОНИТОРИНГЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ МОДЕЛЬНОГО ТЕСТ-ОБЪЕКТА

Э.А. Агаджанян<sup>1</sup>, Р.Э. Авалян<sup>1</sup>, А.Л. Атоянц<sup>1</sup>,  
Л.С. Саакян<sup>2</sup>, А.К. Сагателян<sup>2</sup>, Р.М. Арутюнян<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ЕГУ, биологический факультет, Ереван, genetik@ysu.am

<sup>2</sup>Центр эколого-ноосферных исследований НАН РА, Ереван, svlilit@yahoo.com

Проблема загрязнения окружающей среды остатками ядохимикатов и пестицидов остается актуальной для Армении, что связано с их необычайно высокой стойкостью и риском попадания ксенобиотиков в организм человека по различным экологическим цепям (почва-растение-человек; почва-растение-животные-человек)

В связи с высокой стойкостью в окружающей среде остатков ДДТ в виде исходных соединений и основных метаболитов возникает необходимость их мониторинга, поиска и разработки экспрессных методов анализа экотоксикологической ситуации, особенно, в городских системах [Галиулина и др., 2004; Журули и др., 2004].

В последние годы Нубарашенский могильник ядохимикатов, находящийся на территории пригорода г. Еревана, содержащий более 300 тонн хлорорганических стабильных веществ (в особенности ДДТ), стал небезопасным и представляет угрозу для жителей близлежащих сел. Так как могильник находится в активной оползневой зоне и очень близко расположен к населенным пунктам и сельскохозяйственным угодиям, что приводит к опасности распространения ксенобиотиков на большие расстояния, актуальным является проведение почвенного мониторинга данной территории [Сперанская, 2005].

Целью настоящей работы явилось изучение уровня генотоксичности почвенных образцов из района Нубарашенского могильника, предоставленных нам Центром эколого-ноосферных исследований, с различной степенью загрязненности ДДТ (дихлордифенилтрихлор-метилметан) в системе почва-растение с применением биоиндикаторного модельного тест-объекта традесканции (клон 02).

Материалом исследования служили 11 почвенных проб с территории могильника ядохимикатов (образцы маркированы): Pn -34, Pn -39, Pn -40, Pn -82, Pn- 93, Pn -95, Pn-98, Pn -99, Pn -101, Pn – 107, Pn – 108. Почвенные образцы отличались различной степенью концентрации ДДТ. Растения клона 02 традесканции выращивались в одинаковых условиях в вазонах с исследуемыми пробами почв. В качестве контроля (условно фонового) был использован почвенный образец из теплицы ЕГУ.

Для выявления генетических эффектов в клетках традесканции применяли индикаторный тест соматических мутаций – Трад-ВТН (волоски тычиночных нитей). Регистрировались рецессивные мутации в виде розовых мутационных событий (РМС) и генетически неопределенные мутации как бесцветные мутационные события (БМС). Также учитывались различного рода морфологические изменения: невыжившие (НВ) и разветвленные волоски (РВ), изменения количества лепестков и тычинок цветка. В каждом варианте анализировались 10000 волосков [Ma et al., 1994].

На основании проведенных исследований показано повышение уровня мутацион-

ных событий во всех исследуемых вариантах. Частота встречаемости розовых соматических мутаций (РМС) превысила контрольный уровень в 2-11 раз в зависимости от почвенного образца. Наибольшее значение частоты РМС наблюдалось в образцах Pn-108, Pn-34, Pn-39 и достоверно превысило фоновый уровень в 5, 6 и 11 раз соответственно (таблица).

Таблица

Частота мутационных событий в клетках традесканции (клон 02)

Варианты	ДДТ (мг/кг)	Соматические мутации		Морфологические изменения	
		(РМС/1000) ± m	(БМС/1000) ± m	(НВ/1000) ± m	(РВ/1000) ± m
Pn 34	1,35	1,86±0,43***	57,2±2,3***	4,71±0,67***	1,18±0,34**
Pn 39	—	3,27±0,57***	21,0±1,43***	3,57±0,59**	0,89±0,3*
Pn 40	0,045	1,18±0,34**	19,6±1,38***	0,89±0,3	0,59±0,24*
Pn 82	—	1,28±0,35**	16,3±1,26**	2,4±0,49*	0,39±0,2
Pn 93	4,05	0,59±0,24*	7,7±0,87	1,28±0,35	0,39±0,2
Pn 95	0,19	0,98±0,17*	12,8±1,1	0,98±0,31	0,09±0,1
Pn 98	321,29	—	—	—	—
Pn 99	2,86	0,49±0,22*	6,39±0,79	2,26±0,47*	0,19±0,14
Pn 101	5,76	0,34±0,20	20,7±1,53***	2,18±0,5*	0,12±0,1
Pn 107	106,55	0,99±0,31***	17,5±1,31**	3,19±0,56**	0,49±0,22
Pn 108	14,76	1,48±0,38**	17,4±1,30**	4,16±0,64***	0,09±0,1
K	—	0,29±0,17	12,8±1,1	1,58±0,39	0,19±0,14

\* - p<0.05, \*\* - p<0.01, \*\*\* - p<0.001

Достоверные различия отмечались также и при анализе БМС, где частота данных мутационных событий во всех вариантах превысила контроль почти в 2 раза. По данному показателю отличался вариант Pn-34, где частота мутаций была выше фонового значения в 4,5 раза.

Помимо мутационных событий в тычиночных волосках традесканции были зарегистрированы и разные типы морфологических изменений. По показателям невыживших (НВ) и разветвленных волосков (РВ) отличались образцы Pn-34 и Pn-39, где встречаемость данных изменений превысила уровень фона по показателю НВ-почти в 3 раза, а по показателю РВ- в 4,5-6 раз соответственно в зависимости от образца.

Кроме того, почти во всех опытных вариантах наблюдались также изменения числа тычинок цветка: вместо 6-ти тычинок формировались 4, 5, иногда 7.

Характерным явилось то, что образец Pn - 98 с максимальной концентрацией ДДТ проявлял фитотоксическое действие на растения традесканции. На протяжении всего периода вегетации наблюдалось торможение и задержка роста и развития опытных растений. Следует также отметить, что во всех опытных образцах в большей или меньшей степени проявлялся данный эффект, особенно в начале вегетации.

В наших исследованиях не выявлено положительной корреляционной зависимости уровня мутационных событий от концентрации ДДТ в опытных почвенных образцах. Высокая значимая положительная корреляция отмечалась между концентрациями ДДТ и процентом НВ ( $r=0,90$ ,  $p<0,001$ ). Наблюдалась положительная средняя корреляция между РМС и РВ ( $r=0,75$ ,  $p<0,01$ ), а также БМС и РВ ( $r=0,65$ ,  $p<0,01$ ).

Максимальный уровень всех генетических эффектов в наших исследованиях наблюдался, в основном, в образцах с незначительным количеством ДДТ. Очевидно, что причина индукции соматических мутаций (РМС) в данном случае, по-видимому, не связана с увеличением концентрации ДДТ в почвенных образцах (особенно в образцах Pn-39 и Pn-82). Возможно данный эффект объясняется наличием в исследуемых образцах других токсических веществ, в частности, выделяемых городской свалкой, распо-

ложенной на той же территории.

В целом можно констатировать, что изученные почвенные образцы обладают выраженной токсичностью в системе почва-растение. Традесканция клон 02 как тест-объект (по данным биотеста Трад-ВТН) может быть использована в качестве биоиндикатора техногенной напряженности в конкретных природно-экологических регионах.

#### Литература

Галиулина Р.А., Галиулин Р.В. Реконструкция загрязнения почв и поверхностных вод инсектицидами ДДТ и ГХЦГ по данным их мониторинга // *Агрехимия*, 2004.- N 4.- С.73-77.

Журули М.О., Гвинерия И.С., Саакадзе В.Х. Остатки пестицидов - реальная опасность для здоровья населения Грузии // *Новости РЭЦ Кавказ*, 2004.- вып.7.- С.27.

Сперанская О.А. Пестициды: угроза реальна.- Москва: Эко-Согласие, 2005. - 71с.

Ma T.H., Cabrera G.L., et al. *Tradescantia* Stamen Hair Mutation Bioassay // *Mutation Research*, 1994. - V. 310. - P. 211-220.

### **ВЫЯВЛЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ НАНОЧАСТИЦ КОЛЛОИДНОГО ЗОЛОТА В КЛЕТКАХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ВЫСШИХ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ**

В.А. Богатырев<sup>1,2</sup>, А.А. Голубев<sup>2</sup>, А.Ю. Прилепский<sup>1</sup>,  
О.Г. Букина<sup>1</sup>, М.К. Соколова<sup>1</sup>, Л.А. Дыкман<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ИБФРМ РАН, Саратов, dykman@ibppm.sgu.ru

<sup>2</sup>СГУ, Саратов, bog@ibppm.sgu.ru

Золотые и серебряные наночастицы используются в цитологических исследованиях как преобразователи биоспецифических взаимодействий в оптически регистрируемый сигнал. В этом качестве они носят названия биомаркеров, оптических биосенсоров или оптических зондов. Как электроноплотные метки они давно зарекомендовали себя в электронной микроскопии. В настоящее время они находят все большее применение в оптической, в том числе, конфокальной лазерной микроскопии (CLSM). Такое применение обеспечено уникальными оптическими и химическими свойствами наночастиц благородных металлов.

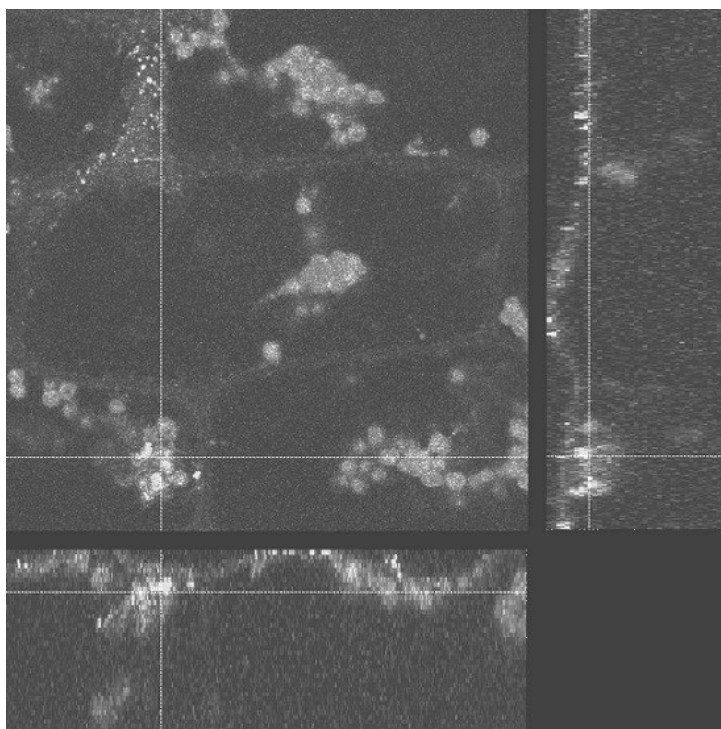
Идея использования золотых сферических наночастиц различных размеров как оптических зондов была ярко продемонстрирована в работе [Yguerabide, Yguerabide, 2001]. Принципы визуализации плазмонно-резонансных частиц (ПРЧ) в световом микроскопе основаны на их свойствах поглощать (просвечивающая) и рассеивать (темнопольная и эпиларизационная оптика) видимый свет [Hayat, 1989; Roth, 1983].

Исследование эндоцитоза золотых наночастиц животными клетками в последнее время интенсивно проводится во многих научных группах. Областью научных интересов является выяснение размерной зависимости транспорта ПРЧ внутрь клеток [Wang, 2010], а также связи этого процесса с параметрами поверхностной функционализации и токсичностью наночастиц [Alkilany, Murphy, 2010].

Удобным объектом для изучения воздействия ПРЧ на живые клетки являются водные растения. Одной из предпосылок к возможности такого рода воздействия является гетеротрофный тип питания. Удобством для изучения зеленых растений методами CLSM является автофлуоресценция хлорофилла. Наш интерес к этому кругу объектов в некоторой степени был инспирирован работой [Su et al., 2010], в которой обсуждалось возможное влияние плазмонного резонанса золотых нанозвезд (НЗв) (у авторов цитируемой работы gold nano-sea-urchins) на параметры фотолюминесценции хлорофилла. В

наших экспериментах с листьями *Egeria najas* мы обнаружили возможную колокализацию НЗв с хлоропластами растительных клеток после 24-часовой инкубации и вакуумной инфльтрации, однако, принципиальных отличий в фотолуминисценции хлорофилла А по сравнению с контролем методами флуоресцентной микроскопии нам обнаружить не удалось. На рис. 1 приведены 3 проекции CLSM изображения листа *E. najas*. Пунктирными линиями показаны положения оптических сечений. Наиболее яркие точки соответствуют НЗв, изображения которых получены в режиме регистрации светорассеяния ( $\delta\lambda=0$ ) при возбуждении лазером с длиной волны  $\lambda=633$  нм. Более темные пятна соответствуют изображениям хлоропластов, которые получены в режиме регистрации красной флуоресценции хлорофилла в области  $\lambda=670$  нм.

Обнаруженная нами колокализация НЗв с хлоропластами *E. najas* может быть как артефактом препарирования, так и наблюдения, поскольку препарат листа растения после 24 ч инкубации с НЗв подвергался вакуумной инфльтрации в просветляющей среде (50% глицерине). Для снижения вероятности получения оптических артефактов мы выбрали модель, отличающуюся большой гетерогенностью по показателю преломления внутреннего строения, солоноводную микроводоросль *Dunaliella salina* [Масюк, 1973].

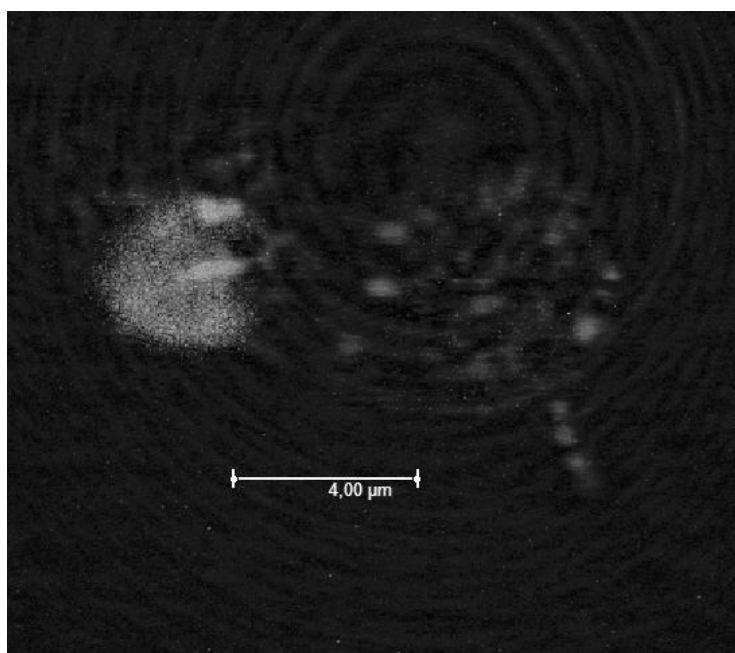


**Рис. 1.** CLSM изображение 3 проекций XY – слева, YZ – справа, XZ – внизу листа *E. najas*, инкубированного с НЗв. Микроскоп Leica TCS SP5, объектив HCX PL APO CS 63.0x1.40 OIL UV.

Настройку напряжения ФЭУ канала регистрации светорассеяния  $\lambda=633$  нм ( $\delta\lambda=0$ ) проводили таким образом, чтобы в контрольных образцах (не содержащих наночастиц) сигнал отсутствовал. При этом в образцах, инкубированных с НЗв, сигнал светорассеяния надежно регистрировался в виде ярких точек и пятен, ассоциированных как с живыми, так и лизированными клетками.

На рис. 2 показан срединный оптический срез живой клетки (слева) *D. salina*. Светлые пятна в центре бокаловидного углубления хлоропласта и на его периферии, по нашему мнению, соответствуют агрегатам НЗв. Сигнал канала регистрации флуоресценции хлорофилла (диффузное окрашивание слева) выявляется только в живой клетке,

но не в области тени клетки (справа).



**Рис. 2.** CLSM изображение срединного оптического среза клетки *D. salina*, инкубированной с НЗв 48 ч. Микроскоп Leica TCS SP5, объектив HCX PL APO CS 63.0x1.40 OIL UV.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-00629-а.*

#### Литература

Масюк Н.П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Теод. и перспективы его практического использования. – Киев: Наукова думка, 1973. – 245 с.

Alkilany A.M., Murphy C.J. Toxicity and cellular uptake of gold nanoparticles: what we have learned so far? // *J. Nanopart. Res.*, 2010. – V. 12. – P. 2313-2333.

Colloidal Gold: Principles, Methods and Applications / Ed. Hayat M.A. -San Diego: Academic Press. 1989. – V. 1. – 538 p.; – V. 2. – 484 p.; 1990. – V. 3. – 421 p.

Roth J. The colloidal gold marker system for light and electron cytochemistry // In: *Techniques in immunocytochemistry. V.2.* / Eds. Bullock G.R. and Petrusz P. -London: Academic Press. 1983. P. 217-284.

Su Y.H., Tu S.-L., Tseng S.-W., Chang Y.-C., Change S.-H. Zhang W.-M. Influence of surface plasmon resonance on the emission intermittency of photoluminescence from gold nano-sea-urchins // *Nanoscale*, 2010. – V. 2. – P. 2639-2646.

Wang S.-H., Lee C.-W., Chiou A., Wei P.-K. Size-dependent endocytosis of gold nanoparticles studied by three-dimensional mapping of plasmonic scattering images // *J. Nanobiotechnology*, 2010. – V. 8. DOI: 10.1186/1477-3155-8-33.

Yguerabide J., Yguerabide E.E. Resonance light scattering particles as ultrasensitive labels for detection of analytes in a wide range of applications // *J. Cell. Biochem. Suppl.*, 2001. – V. 37. – P. 71-81.



# КОЛОРИМЕТРИЧЕСКАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ РОДА *DUNALIELLA* ТЕОД. ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТОКСИКАНТОВ НАНОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

В.А. Богатырев<sup>1,2</sup>, А.А. Голубев<sup>2</sup>, А.Ю. Прилепский<sup>1</sup>, О.Г. Букина<sup>1</sup>, Л.А. Дыкман<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ИБФРМ РАН, Саратов, dykman@ibppm.sgu.ru

<sup>2</sup>СГУ, Саратов, bog@ibppm.sgu.ru

Плазмонно-резонансные частицы (ПРЧ) широко используются в современных медико-биологических исследованиях. Наибольшее распространение получили наночастицы коллоидного золота различных форм, размеров и поверхностной функционализации [Dykman, Khlebtsov, 2012]. Предпочтение золоту отдается в связи с его наименьшей из известных наноматериалов собственной цитотоксичностью [Khlebtsov, Dykman, 2011]. Зачастую цитотоксичность обусловлена свойствами молекул покрытия, десорбирующихся с поверхности наночастиц, в связи с чем, особенно в тех случаях, когда контроль концентрации действующего вещества затруднен, необходимо проводить так называемый супернатант-контроль [Alkilany, Murphy, 2010].

Цетилтриметиламмонийбромид (ЦТАБ) и другие катионные ПАВ широко применяются в технологии синтеза золотых и серебряных ПРЧ для придания несферической формы [Kooij et al., 2012]. В водных суспензиях катионные ПАВ образуют на поверхности металлических мицелл двойной слой [Nikoobakht, El-Sayed, 2001], плотность которого симбатно зависит от радиуса кривизны поверхности, что в большой степени и определяет условия анизотропного роста наночастиц. Цитотоксичность ЦТАБ-покрытых золотых наностержней отмечалась во многих исследованиях [Niidome et al., 2006], в то же время, известно, что при тщательной отмывке циклическим центрифугированием и ресуспендированием в воде, токсическое действие наночастиц существенно снижается, вплоть до исчезновения [Pissuwan et al., 2007].

Целью настоящего исследования была разработка тест-системы оценки токсичности наноматериалов в зависимости от размеров, формы и поверхностной функционализации наночастиц. В качестве тестируемых параметров были определены концентрации токсикантов, вызывающие половинную гибель (лизис) клеток (LC50) и половинное ингибирование скорости роста (IR50).

В большинстве токсикологических работ отмечается токсичность ЦТАБ-содержащих наноматериалов, хотя механизмы действия и токсические величины могут быть различны для различных клеток и зависят, по всей видимости, от тканевой (клеточной) дифференциации. Тем не менее, общей для всех механизмов цитотоксического действия ЦТАБ является мембранная направленность. В связи с этим в качестве модельного объекта было решено использовать наименее дифференцированную культуру клеток, отличающуюся хорошо развитым мембранным аппаратом. Наш выбор пал на одноклеточные зеленые микроводоросли *Dunaliella salina*, схожие с животными клетками отсутствием клеточной стенки [Масюк, 1973]. Кроме удобства культивирования, штаммы этого вида водорослей отличаются простотой поддержания аксеничных культур, обусловленной их высокой солеустойчивостью, связанной с природными местобитаниями в соленых озерах в гиперосмотических условиях. Различные виды *Dunaliella* уже находят применение в токсикологических исследованиях. [Остроумов и др., 1990; Маркина, Айздайчер, 2008; Qv, Jiang, 2013]. Морские микроводоросли *D. tertiolecta* были объектом изучения некоторых путей апоптоза одноклеточных организмов [Segovia et al., 2003]. Авторами было показано, что длительное пребывание в темноте вызывает апоптотическую гибель клеток, сопровождающуюся конденсацией хроматина, деграда-

цией ядер и фрагментацией ДНК. Многоплановое токсикологическое исследование влияния коллоидного серебра с частицами 50 нм на пресноводную водоросль *Chlorella vulgaris* и морскую *D. tertiolecta* было проведено канадскими и французскими исследователями [Oukarroum et al., 2012].

Традиционно для исследования цитотоксичности наноматериалов для животных клеток, культивируемых *in vitro*, применяют тест трансформации метилтиазолтетразолия до диформаза в результате действия митохондриальных дыхательных ферментов тестируемых клеток. Обычно токсичность выражают в долях или процентах от контроля после определенного времени инкубации клеточной линии с токсикантом, стандартно, 24-72 ч.

Определение токсичности наноматериалов для микроводорослей *D. salina* проводили в культивационных 96 луночных планшетах с плоским дном. Первоначально в лунки вносили токсиканты в серии двукратных разведений культуральной средой. В последние лунки рядов токсикант не вносили и использовали в качестве отрицательного контроля. Каждый ряд триплицировали. Значения оптических плотностей в полосах фильтров 414 нм и 690 нм планшетного спектрофотометра записывали как бланк ( $D\lambda(bl)$ ). Во все лунки планшета вносили равные объемы суспензии микроводорослей из накопительных культур. Объем инокулята варьировали в зависимости от оптической плотности среды таким образом, чтобы поглощение на 690 нм составляло  $D\lambda(0) = D\lambda(m) - D\lambda(bl) \approx 0.1 - 0.2$ , где индексы (0) и (m) обозначают время и «измеренная», соответственно. При объеме инокулята 100 мкл  $D\lambda \approx 1/10 OD\lambda$ , где OD – оптическая плотность в 1 см кювете. Измеряли и записывали значения  $D\lambda(0)$ . Далее планшеты инкубировали в лабораторной факторостатной камере, представляющей собой прозрачную пластиковую кювету, заполненную дистиллированной водой на глубину  $\approx 0.5$  см, расположенную над двумя параллельными люминесцентными лампами по 6 Вт длиной 27 см (WL-4002) на высоте 10 см. Измерения и запись данных проводили каждые 24 ч.

Планшетный вариант измерения жизнеспособности микроводорослей по изменению оптической плотности суспензии в области красного максимума поглощения хлорофилла удобен из нескольких соображений. Прежде всего, он позволяет избежать процедуры экстракции хлорофилла. Более того, при повреждении клеточных мембран хлорофилл, вытекая наружу, подвергается фотодеструкции и обесцвечивается. Интактные клетки сохраняют свою окраску, что позволяет косвенно судить о количестве живых организмов и кинетике развития популяции. Результат гибели клеток проявляется через 24 ч наблюдений. В лунках, где произошла гибель клеток, взвесь обесцвечивается. Под микроскопом можно наблюдать вытекание внутриклеточного матрикса за видимые границы клеток и довольно быстрое выгорание красной флуоресценции. Дальнейшую судьбу популяции выживших клеток удобно наблюдать, анализируя кривые роста, представленные как зависимость оптической плотности на длине волны, близкой к одному из максимумов флуоресценции *Dunaliella*, от времени.

В результате проведенных исследований разработана диагностическая тест-система определения токсичности наноматериалов для микроводоросли *D. salina*, основанная на колориметрических измерениях, позволяющая оценивать лизирующее действие токсикантов и замедление скорости роста культуры. Показано, что препараты золотых наночастиц: наностержней (НСст), нанозвезд (НЗв) и наносфер (НСф), покрытых катионным детергентом ЦТАБ проявляют цитотоксичность отличную от растворов их супернатантов и свободного ЦТАБ сравнимых концентраций. Детергент оказывает лизирующее действие на клетки микроводорослей. В результате разрушения хлоропластов хлорофилл подвергается фотодеструкции, что проявляется в обесцвечивании суспензии.

Среди препаратов серебра наименьшим токсическим действием обладали наноча-

стицы коллоидного серебра (КС) в сравнении с ионным серебром, вносимым в виде AgNO<sub>3</sub>, и протеинатом серебра (ПрAg). IC<sub>50</sub> и IR<sub>50</sub> для препаратов серебра составили следующие значения в пересчете на атомарное серебро:

- КС – LC<sub>50</sub> = 22.76±7.10 мкг/мл, IR<sub>50</sub> = 6.83±0.22 мкг/мл;
- AgNO<sub>3</sub> – LC<sub>50</sub> = 1.71±0.27 мкг/мл, IR<sub>50</sub> = 0.57±0.07 мкг/мл;
- ПрAg – LC<sub>50</sub> = 2.14±0.30 мкг/мл, IR<sub>50</sub> = 0.78±0.10 мкг/мл.

Дополнительным параметром, характеризующим физиологическое состояние микроводорослей, может быть индекс цветности – соотношение полос поглощения в синей и красной областях спектра.

*Работа поддержана грантом РФФИ 12-04-00629-а.*

#### Литература

Маркина Ж.В., Айздайчер Н.А. Биотестирование воды из залива Петра Великого (Японское море) с помощью микроводоросли *Dunaliella salina* // Экология, 2008. – № 3. – С. 196-200.

Масюк Н.П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Теод. и перспективы его практического использования. – Киев: Наукова думка, 1973. – 245 с.

Остроумов С.А., Борисова Е.В., Ленова Л.И., Максимов В.Н. Воздействие сульфанола на культуру водоросли *Dunaliella asymmetrica* и проростки *Fagopyrum esculentum* // Гидробиол. журн., 1990. – Т. 26. – С.96-98.

Alkilany A.M., Murphy C.J. Toxicity and cellular uptake of gold nanoparticles: what we have learned so far? // J. Nanopart. Res., 2010. – V. 12. – P. 2313-2333.

Dykman L.A., Khlebtsov N.G. Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives // Chem. Soc. Rev., 2012. – V. 41. – P. 2256-2282.

Khlebtsov N.G., Dykman L.A. Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: A review of *in vitro* and *in vivo* studies // Chem. Soc. Rev., 2011. – V. 40. – P. 1647-1671.

Kooij E.S., Ahmed W., Hellenthal C., Zandvliet H.J.W., Poelsema B. From nanorods to nanostars: Tuning the optical properties of gold nanoparticles // Colloids Surf. A, 2012. – V. 413. – P. 231-238.

Niidome T., Yamagata M., Okamoto Y., Akiyama Y., Takahishi H., Kawano T., Katayama Y., Niidome Y. PEG-modified gold nanorods with a stealth character for *in vivo* applications // J. Control. Release, 2006. – V. 114. – P. 343-347.

Nikoobakht B., El-Sayed M.A. Evidence for bilayer assembly of cationic surfactants on the surface of gold nanorods // Langmuir, 2001. – V. 17. – P. 6368-6374.

Oukarroum A., Bras S., Perreault F., Popovic R. Inhibitory effects of silver nanoparticles in two green algae, *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella tertiolecta* // Ecotoxicol. Environ. Saf., 2012. – V. 78. – P. 80-85.

Pissuwan D., Valenzuela S.M., Killingsworth M.C., Xu X., Cortie M.B. Targeted destruction of murine macrophage cells with bioconjugated gold nanorods // J. Nanopart. Res., 2007. – V. 9. – P. 1109-1124.

Qv X.-Y., Jiang J.-G. Toxicity evaluation of two typical surfactants to *Dunaliella bardawil*, an environmentally tolerant alga // Environ. Toxicol. Chem., 2013. – V. 32. – P. 426-433.

Segovia M., Haramaty L., Berges J.A., Falkowski P.G. Cell death in the unicellular chlorophyte *Dunaliella tertiolecta*. A hypothesis on the evolution of apoptosis in higher plants and metazoans // Plant Physiol., 2003. – V. 132. – P. 99-105.

## ИЗМЕРЕНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИ АКТИВНОЙ РАДИАЦИИ В ЛЕСНОМ ЦЕНОЗЕ

В.К. Болондинский<sup>1</sup>, В.В. Яковлев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт леса КарНЦ РАН, Петрозаводск, bolond@krc.karelia.ru

<sup>2</sup>Группа ИТС при Президиуме КарНЦ РАН, Петрозаводск, velvol@mail.ru

При изучении CO<sub>2</sub>-газообмена в лесных ценозах одной из важных проблем является измерение солнечной радиации. Информация о пространственной и временной неоднородности освещенности имеет большое значение при изучении продукционного процесса и его моделировании. Если над кронами ее зарегистрировать достаточно просто, то в межкрупном пространстве эти измерения представляют сложную техническую задачу [Цельникер, 1969, Palva et al., 2001, Salminen et al., 1983]. Поскольку для фотосинтеза используется видимый диапазон света, то требуются датчики, которые измеряли бы фотосинтетически активную радиацию (ФАР). Измерения под пологом леса по отдельным горизонтальным слоям в принципе можно проводить одним движущимся приемником ФАР. Однако, задача длительного равномерного перемещения датчика в слое растительности, где должно производиться осреднение и фиксация сигнала датчика на приемное устройство, далеко не простая задача [Томинг, Гуляев, 1967].

Целью нашего исследования являлось проведение измерений ФАР под пологом 50-летнего сомкнутого березняка (высота 18 м) искусственного происхождения с помощью устройства, изготовленного на базе современных ИТ-технологий. Для решения поставленной задачи было разработано устройство, состоящее из пластмассовой штанги длиной 210 см, на которой на одинаковом расстоянии (40 см) располагались фоточувствительные элементы. Мы использовали фотосопротивления типа GL5528, которые в области низких значений радиации имели в логарифмических координатах практически линейную характеристику.

Существует довольно много различных типов фоточувствительных датчиков, которые различаются по своему предназначению, функциям, чувствительности, цене. Последний фактор имеет немаловажное значение, так как для получения достоверных усредненных показаний освещенности в пологе древостоя за 10-минутный промежуток времени при фиксировании сигналов датчиками каждые несколько секунд, могут потребоваться десятки датчиков [Smolander, 1984].

Хотя у нас имелось 20 датчиков, отработку методики было решено проводить с использованием 4 датчиков. Датчики проводами соединялись с микроконтроллером (МК). Питание его осуществлялось с помощью аккумулятора (Ак), заряда которого хватало на 5 суток непрерывной работы. Сигнал с датчиков обрабатывался МК и записывался в память (П). Блок с МК, П и Ак крепился на краю штанги и имел размеры 12х9х6 см. Данные записывались на карту MicroSD объемом 2 Гбайта, которая извлекалась из блока для копирования в компьютер с целью дальнейшей обработки.

Каждое измерение, которое начиналось с нажатия кнопки на МК и заканчивалось нажатием этой же кнопки, записывалось в отдельный файл. С помощью написанной на языке C/ C++ программы файл формировался следующим образом: показания четырех датчиков, дата, время. Запись происходит один раз в две секунды. При необходимости интервал записи, как и количество датчиков, можно изменить в программе.

В принципе, решена задача передачи записанной информации от нескольких узлов (штанг) в центральный узел – координатор через беспроводные модемы. При подключении координатора к ноутбуку (компьютеру, находящемуся на расстоянии до ста метров от места проведения измерений) можно в реальном времени на экране иметь картину изменения солнечной радиации в зависимости от облачности, ажурности крон,

изменений положения листвы из-за ветра и других факторов. Узел координатора содержит также модуль сотовой связи, с помощью которого производится передача полученных данных на сервер сети Интернет по расписанию.

Ключевым вопросом при измерении интенсивности солнечной радиации с помощью предлагаемой системы является градуировка датчиков. От тщательности ее проведения, адекватности моделей и точности аппроксимации полученных данных зависит достоверность показаний при измерении радиации. Градуировку датчиков проводили в ясную погоду с использованием эталонной пары «пиранометр Янишевского – гальванометр», а также люксметра (Ю-116). ФАР измеряли датчиком системы LI-6200 (Лайкор, США). Штанга устанавливалась в горизонтальном положении. Для снижения освещенности датчики и эталонные приборы последовательно закрывали слоями марли и плотной ткани и получали по 8-10 точек для градуировочных кривых каждого датчика. Далее с помощью тента изолировали датчики от прямых солнечных лучей и проводили градуировку при низких значениях освещенности.

При значениях общей радиации 30-700 Вт/м<sup>2</sup> погрешность измерения пиранометром была вполне приемлемой и не превышала 3%. При малых значениях общей радиации (1-20 Вт/м<sup>2</sup>) использовался чувствительный люксметр. Датчик Лайкора фиксировал с приемлемой точностью даже значения ФАР в диапазоне 5-10 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>.

По показаниям датчиков мы рассчитывали величины интегральной солнечной радиации и ФАР. Для этого зависимости I(C) и Phar(C), где Phar – ФАР, I – интегральная солнечная радиация и C – показания датчика, аппроксимировались функциями типа:

$$y=a_1+a_2/(x+a_3), y=a_1 \times \exp(-a_2 \times x)+a_3 \quad (1)$$

Средняя ошибка аппроксимации (A) оценивалась по формуле:

$A = 1/n \times \sum |(y_i - y)/y_i| \times 100\%$ , где  $y_i$  и  $y$  – измеренные и предсказанные значения соответственно,  $n$  – количество измерений. Несмотря на высокие коэффициенты корреляции ( $r$ ) достоверность аппроксимации была низкой. Использование полинома типа  $y=a_1+a_2/(\ln x)+a_3/(\ln x)^2 \dots +a_n/(\ln x)^n$  давало лучшие результаты. При этом чем выше степень полинома, тем лучше он аппроксимировал градуировочную кривую. Мы ограничивались в основном 6 степенью полинома, при плохой сходимости использовали более высокую степень. В том случае, если измерения при снятии градуировочной кривой проводились тщательно, особенно при низкой радиации, A регрессионных моделей составляла 8-12%.

Небрежности при проведении градуировки приводили при измерении радиации под пологом леса к значительному разбросу между средними значениями радиации, рассчитанными по показаниям датчиков за 3 минуты измерений на одной и той же затененной площади. Достоверность моделей была высока при ФАР > 30 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup> и I > 50Вт/м<sup>2</sup> и расчетные величины по каждому датчику различались на не более 2-3 %. В условиях же затененности, несмотря на очень тщательное снятие световой кривой, достичь одинаковых рассчитанных средних значений радиации для каждого датчика с точностью до нескольких процентов нам не удавалось. В результате погрешность измерений общей радиации под пологом леса составляла 12-15%, а ФАР – 8-10%. Возможно, с датчиками другой конструкции погрешность была бы более низкой.

Тестирование измерительной системы проводили в июле с 12 до 14 часов в солнечную погоду с использованием нашей установки и датчика ФАР системы LI-6200, подключенного к компьютерному блоку. Штангу с датчиками и компьютерный блок передвигали в течение трех минут на участках 50-летнего березняка с достаточно однородной освещенностью, а также на его опушке, где освещенность претерпевала сильные колебания. Некоторые участки находились в смешанном лиственном лесу со вторым ярусом растительности. Скорость перемещения составляла 1 м в сек. С датчиков на штанге снималось около 500 показаний. Датчиком Лайкора фиксировали на каждом

участке только по 27 значений. Рассчитывались как средние значения  $\Phi AP$  и общей радиации для каждого датчика, так и средние значения с 4 датчиков. Величины  $\Phi AP$ , измеренные двумя системами, в целом имели близкие значения (табл.). На некоторых участках они различались на 10-15%.

Таблица

Усредненные значения  $\Phi AP$ , измеренные датчиком системы LI-6200 ( $\Phi AP-I$ ) и датчиками на штанге ( $\Phi AP-II$ )

	Участки 50-летнего березняка (высота древостоя 18 м)						
	1	2	3	4	5	6	7
$\Phi AP-I, \text{мкмоль м}^{-2} \text{с}^{-1}$	81,6	92,8	129,2	691,7	298,2	119,3	119,3
$\sigma$	94,0	111,4	188,1	685,5	419,9	146,7	125,6
$n1$	27	27	27	27	27	27	27
$\Phi AP-II, \text{мкмоль м}^{-2} \text{с}^{-1}$	69,4	82,3	129,5	579,8	314,5	167,3	134,1
$\sigma$	109,3	85,6	155,2	551,2	274,1	220,2	139,9
$n2$	436	480	480	528	468	479	492

Примечание:  $\sigma$  - квадратичное отклонение,  $n1$  и  $n2$  – количество снятых показаний системами  $\Phi AP-I$  и  $\Phi AP-II$ .

Систематическая ошибка отсутствовала и различия были связаны в основном с неточностью определения среднего уровня  $\Phi AP$  как первым, так и вторым способом. Сказалась также некоторая неточность градуировки датчиков. Тем не менее, все различия в средних величинах  $\Phi AP$  на участках были достоверны (при  $p=0,05$ ) за исключением 1 и 2 участков, находившихся практически рядом. При измерениях датчиками Лайкора достоверными были различия 1 и 4, 5; 2 и 4, 5; 3 и 4, 5; 4 и 5, 6, 7 участков. Увеличение количества датчиков на штанге позволило бы сравнивать участки с освещенностью, отличающейся на 10-12%. В дальнейшем эксперименты будут продолжены и опробованы разные конструкции измерительного устройства.

Таким образом, представленное устройство для измерения освещенности и  $\Phi AP$  в лесу даже в самом простом исполнении позволяло в принципе проводить измерения  $\Phi AP$  в растительном ценозе. Дальнейшая его доработка может значительно повысить точность снимаемых показателей и осуществлять эксперименты на более высоком качественном уровне.

#### Литература

- Тооминг Х.Г., Гуляев Б.И. Методика измерения фотосинтетически активной радиации. - М.: Наука, 1967. - 144 с.
- Цельникер Ю.Л. Радиационный режим под пологом леса. - М.: Наука, 1969, - 100 с.
- Palva L., Markkanen T., Siivola E., Garam E., Linnavuo M., Nevas S., Manoochehry F., Palmroth S., Rajala K., Ruotoistenmäki H., Vuorivirta T., Seppälä I., Vesala T., Hari P., Sepponen R.. Tree scale distributed multipoint measuring system of photosynthetically active radiation // Agricultural and Forest Meteorology. 2001. - V. 106. - P. 71-80.
- Salminen, R., Hari, P., Kellomäki, S., Korpilahti, E., Kotiranta, M., Sievänen, R. A measuring system for estimating the frequency distribution of irradiance within plant canopies // J. Appl. Ecol. 1983. - V. 20. - P. 887–895.
- Smolander, H. Measurement of fluctuating irradiance in field studies of photosynthesis // Acta For. Fenn. 1984. - № 187. - 56 p.

## КАРТОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД ОТРАЖЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТИТЕЛЬНОСТИ К ТЕХНОГЕННЫМ ФАКТОРАМ НА НЕФТЕГАЗОВЫХ МЕСТОРОЖДЕНИЯХ КЫЗЫЛОРДИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Л.А. Димеева, Б.М. Султанова, В.Н. Пермитина, К. Усен, Р.Е. Садвокасов

Институт ботаники и фитоинтродукции, Алматы, Казахстан, botanaphyto@mail.ru

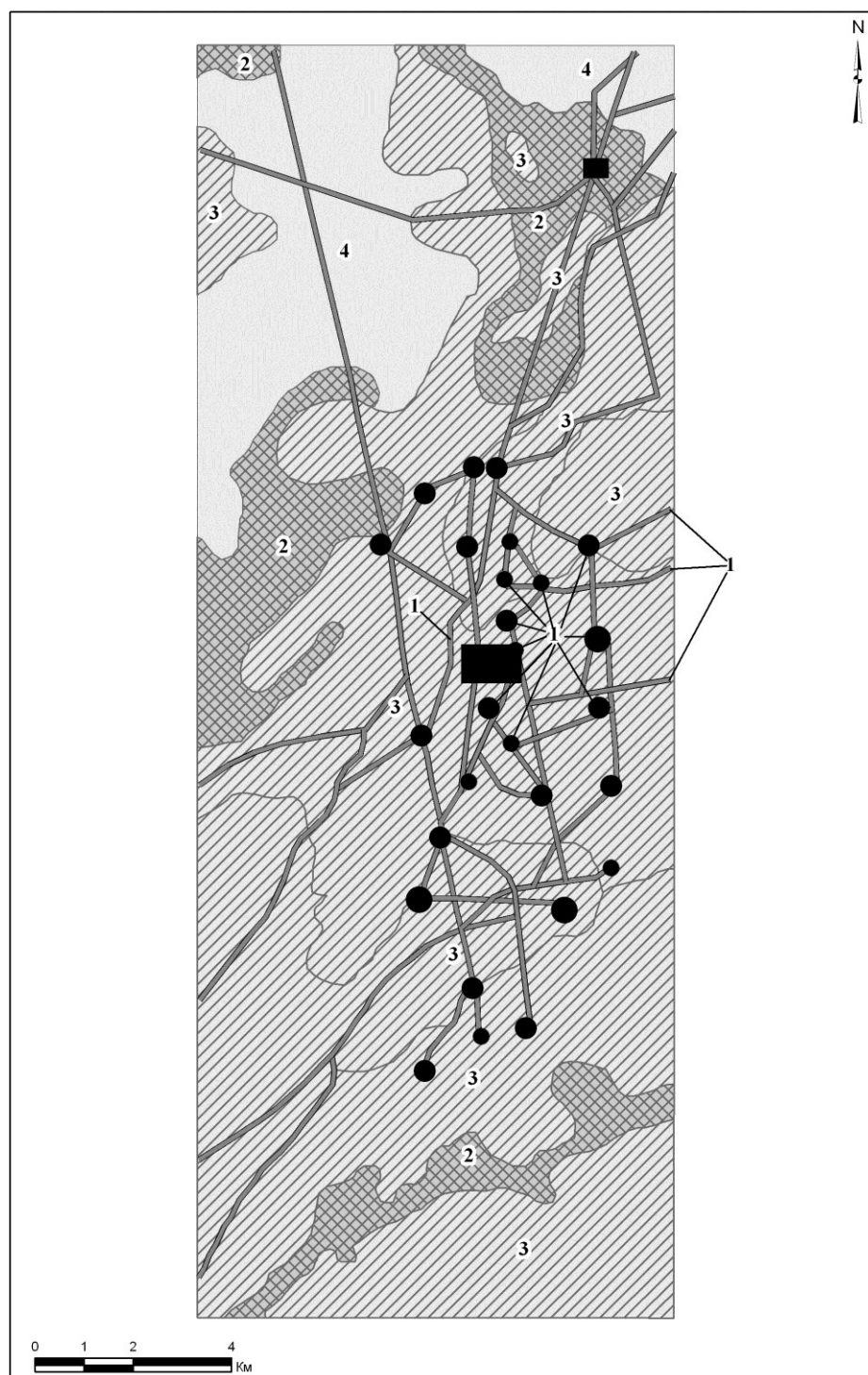
В Кызылординской области разведано 17 нефтегазовых месторождений, по добыче нефти в республике область занимает пятое место. Исследования проводились на одном из месторождений, расположенном в песчаном массиве Арыскуп. Пески Арыскуп относятся к пустынной зоне, подзоне средних пустынь с серо-бурыми, такыровидными и песчаными почвами. Они сформировались при развевании древнеаллювиальных отложений с образованием вторичного эолового бугристо-грядового рельефа.

Растительный покров типичный для северотуранских пустынь. На бугристо-грядовых закрепленных песках распространены полынные (*Artemisia arenaria*, *A. semiarida*, *A. tomentella*, *A. terrae-albae*) и псаммофитнокустарниковые (*Calligonum* spp, *Salsola arbuscula*, *Krascheninnikovia ceratoides*, *Haloxylon persicum*) сообщества. Для мелкобугристых закрепленных песков характерна белосаксауловая (*Haloxylon persicum*), псаммофитнокустарниковая, белоземельнопопынная (*A. terrae-albae*) растительность. На грядовых полузакрепленных песках отмечены разреженные сообщества саксаула белого, псаммофитных кустарников (*Calligonum undulatum*, *Ephedra strobilacea*, *Ammodendron bifolium*, *Astragalus paucijugus*) и псаммофитных видов полыни (*A. arenaria*, *A. tomentella*). На слабоволнистой равнине встречаются черносаксаулово-белоземельнопопынные (*A. terrae albae*, *Haloxylon aphyllum*), рангово-белоземельнопопынные с черным саксаулом (*A. terrae-albae*, *Carex physodes*, *Haloxylon aphyllum*) сообщества на серо-бурых пустынных почвах. Для предпесковой равнины характерны комплексы биюргуновых и чернопопынных сообществ (*Anabasis salsa*, *Artemisia pauciflora*) на солонцах пустынных в сочетании с кейреуково-белоземельнопопынными (*Artemisia terrae-albae*, *Salsola orientalis*) сообществами на серо-бурых пустынных почвах и единичными солянками (*Salsola nitraria*, *Halimocnemis karelinii*, *Anabasis salsa*) на такырах. Растительный покров характеризуется средней степенью нарушенности, обусловленной выпасом и техногенными факторами. Сильно нарушена растительность вдоль дорог, вокруг нефтяных скважин и в вахтовых поселках. Антропогенно-производная растительность представлена разреженными группировками сорных однолетников (*Kochia scoparia*, *Ceratocarpus arenaria*, *Chenopodium album*, *Salsola nitraria*). В вахтовом поселке для озеленения успешно произведены посадки из *Populus diservifolia*, *Haloxylon aphyllum*, *Elaeagnus oxycarpa*, *Pinus sylvestris*.

Картографическая модель устойчивости (рис. 1) составлена на основе карты растительности. Легенда к карте растительности содержит 11 номеров. Для гомогенного растительного покрова картируемой единицей является тип фитоценоза, при выделении которого учитывался состав доминантных и характерных видов, рельеф, режим увлажнения и почвенный покров. При картировании гетерогенной растительности использованы такие территориальные единицы, как комплекс, сочетание и серия. Неоднородность растительного покрова связана с формами мезорельефа песков и разной степенью засоления почв на равнине.

Устойчивость экосистем складывается из способности противостоять воздействию (упругая устойчивость) и способности к самовосстановлению системы после прекращения действия негативного фактора (пластичная устойчивость). Оценка устойчивости растительности месторождения выполнена с помощью экспертной балльной оценки [Вильчек, 1995; Курочкина и др., 2003; Димеева, Пермитина, Меркурьев, 2007]. Про-

водилась поконтурная оценка каждого выдела карты по двум показателям.



**Рис. 1 Карта устойчивости растительности к техногенным факторам  
Потенциал устойчивости: 1 – низкий, 2 – слабый, 3 – средний, 4 – высокий.**

Устойчивость:

0 - неустойчивые экосистемы с нарушением обратных связей, воздействие инициирует «уход» от исходного состояния и препятствует демутационной сукцессии;

1 – слабо устойчивые экосистемы; буферные свойства системы ограничены, структура и функционирование легко нарушаются, стабильная нагрузка вызывает деструкцию, после снятия нагрузки инициируются демутационные сукцессии;



2 – относительно устойчивые экосистемы; буферные свойства системы ограничены, структура и функционирование легко нарушаются, но углубления деструкции при стабильной нагрузке или после снятия не происходит;

3 – устойчивые экосистемы с сильными обратными связями и буферными свойствами; изменения структуры и функционирования системы при воздействии не превышает нормы их естественных флуктуаций.

Восстановительный потенциал:

0 – низкие скорости восстановления, исходный (потенциальный) растительный покров формируется за несколько столетий;

1 – умеренные скорости восстановления (за 10-20 лет), характерно быстрое зарастание пионерными видами растений, но медленное (более 100 лет) восстановление исходного типа растительности;

2 – относительно высокие скорости восстановления, квазикоренные сообщества формируются за 10-20 лет, исходный тип растительности восстанавливается за период более 50 лет;

3 – высокие скорости, исходный тип растительности формируется за 10-20 лет.

При определении категории (балла) для каждого контура принимались во внимание: рельеф, почвы, доминанты растительных сообществ, положение в сукцессии, степень антропогенной нарушенности. В контурах с гетерогенной растительностью каждый элемент неоднородности оценивался самостоятельно, после чего определялся средний балл. В комплексах на предпесковой равнине наибольшей устойчивостью характеризуются кейреуковые белоземельпопынники на серо-бурых пустынных почвах, наименее устойчивы солянковые группировки на такырах. Устойчивость растительности в межбугровых понижениях выше, чем на склонах и вершинах песков. Черносаулово-белоземельнопопынная (зональная) растительность на серо-бурых пустынных почвах слабоволнистой равнины обладает наибольшим потенциалом устойчивости. Антропогенные модификации самые неустойчивые.

Для отражения устойчивости растительности на карте по сумме баллов была составлена шкала потенциала устойчивости: 1 – низкий; 2 – слабый; 3 – средний; 4 – высокий. Генерализация контуров геоботанической карты выявила следующую последовательность растительных сообществ в направлении увеличения устойчивости к техногенным факторам: 1 - антропогенно-производные на песках техногенных → 2 - белосаксауловые, псаммофитнокустарниковые, псаммофитнопопынные на песках грядовых; белоземельнопопынные с псаммофитными кустарниками на серо-бурых техногенных почвах; боялычевые, черносаксауловые, ковыльно-белоземельнопопынные на песках бугристо-грядовых → 3 - попынные, псаммофитнокустарниковые на песках бугристо-грядовых; белосаксауловые, псаммофитнокустарниковые, белоземельнопопынные на песках мелкобугристых; биюргуновые, чернопопынные, белоземельнопопынные, солянковые на слабоволнистой предпесковой равнине → 4 - черносаксаулово-белоземельнопопынные на слабоволнистой равнине. Для действующих месторождений карты устойчивости растительности к техногенным факторам показывают адаптивные механизмы и внутренние резервы саморегуляции экосистем и позволяют выявить наиболее уязвимые участки, нуждающиеся в экологической рекультивации.

#### Литература

Вильчек Г.Е. Устойчивость тундровых экосистем и прогнозирование последствий их антропогенной трансформации // Изв. АН СССР. Сер. геогр. -1995. - № 3. - С. 59-69.

Димеева Л.А., Пермитина В.Н., Меркурьев В.Б. Этапы планирования экологической рекультивации в пустынных регионах Казахстана // Биологическая рекультивация и мониторинг нарушенных земель. – Екатеринбург, 2007. - С. 202-212.

Курочкина Л.Я., Диаров М.Д., Шабанова Л.В. и др. Экология и нефтегазовый комплекс. Экологические ограничения природопользования на территории Северного Каспия (Атырауская область). – Алматы: Гылым, 2003. – Т.5. – 248 с.

## БЕЛОК ТЕПЛООВОГО ШОКА HSP70 КАК ИНДИКАТОР СОСТОЯНИЯ И РЕЗИСТЕНТНОСТИ РАСТЕНИЙ

Л.Е. Козеко, Е.Л. Кордюм

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев, kozeko@optima.com.ua

Реакция растительных клеток на действие неблагоприятных экологических факторов, вызывающих нарушение нативной структуры белков, включает активацию синтеза белков теплового шока (heat shock protein, Hsp), среди которых белки семейства Hsp70 играют ключевую роль [Sørensen et al., 2003]. Индукция синтеза Hsp70 происходит в ответ на действие факторов разной природы, включая температурный, водный, анаэробный, окислительный, осмотический, солевой, биотический виды стресса, нехватку кислорода, радиацию, различные ксенобиотики [Vierling, 1991; Маргулис, Гужова, 2000]. Белки Hsp70 условно делят на конститутивные, функционирующие в клетке в нормальных условиях, и индуцибельные, генная экспрессия которых активируется при стрессе. Вместе с тем, для многих белков, относимых к конститутивным, также характерно более или менее выраженное усиление синтеза в стрессовых условиях [Lin et al., 2001]. Функционируя как молекулярные шапероны, они осуществляют фолдинг и стабилизацию белков в ненативной конформации в ходе множества клеточных процессов. В стрессовых условиях их основная роль состоит в предотвращении агрегации денатурированных белков и их рефолдинге, либо в направлении их на протеолиз.

Наличие Hsp70 практически у всех организмов (1) и их участие в стрессовой реакции на действие различных факторов (2) позволяют использовать эти белки в качестве биомаркера стресса. Кроме того, высокое содержание Hsp, в том числе и Hsp70, коррелирует со стойкостью растений к неблагоприятным изменениям факторов окружающей среды [Bowen et al., 2002], что позволяет рассматривать их в качестве индикатора резистентности растений (3). Важной особенностью этого семейства белков является также высокий уровень гомологии последовательностей (4) [Маргулис, Гужова, 2000; Lin et al., 2001], что значительно облегчает их детекцию у разных видов.

Для проверки такого подхода был протестирован ряд видов покрытосеменных растений, различных по своей экологии: наземные – *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh (родина *Brassicaceae*), *Salix purpurea* L. (*Salicaceae*), *Malva pulchella* Bernh. и *M. sylvestris* L. (*Malvaceae*), *Epipremnum aureum* Linden & André (*Araceae*); воздушно-водные – *Sium latifolium* L. (*Apiaceae*) та *Hydrocotyle verticillata* Thunb. (*Apiaceae*), способные расти как в прибрежной водной зоне, так и на суше; водные – плавающие на поверхности воды растения *Pistia stratiotes* L. (*Araceae*), способные адаптироваться к условиям суходола, и прикрепленные к грунту растения *Trapa natans* L. (*Trapaceae*) и *Vallisneria spiralis* L. (*Hydrocharitaceae*), для которых существование вне воды невозможно. Для анализа использовали листья растений, испытывавших влияние водного дефицита, затопления, высокой температуры в природных условиях и в эксперименте. Hsp70 анализировали методом Вестерн-блоттинга. Методика экстракции суммарных растворимых белков, их электрофоретического разделения в полиакриламидном геле, переноса на нитроцеллюлозную мембрану и иммунодетекции описаны нами ранее [Козеко, 2009]. Для иммунодетекции использовали моноклональные антитела, специфичные к Hsp70 широкого круга организмов (Sigma). Контроль за выравненностью количе-

ства суммарного белка, наносимого на гель, проводили по белковым трекам, окрашенным Кумасси в геле и Понсо С на мембране. При отборе образцов измеряли температуру среды и влажность почвы (ВП, в % от сырого вещества).

Результаты анализа подтвердили эффективность использования антител, специфично связывающих консервативную последовательность Hsp70, для тестирования растений разных семейств. На рисунке в качестве иллюстрации приведены результаты анализа трех видов растений. Поскольку использованные в работе антитела могут реагировать с различными изоформами Hsp70, то белковая зона на иммуноблотах может, очевидно, содержать как одну, так и несколько изоформ, близких по молекулярной массе. Так как задачей данного исследования являлось только выявление факта индукции синтеза Hsp70 в неблагоприятных условиях, то далее для удобства иммунореактивные зоны на блотах называются «белком Hsp70».

В результате анализа Hsp70 у растений разных видов выявлены следующие закономерности.

1. У всех протестированных видов в оптимальных для них условиях Hsp70 либо не выявлялся, либо выявлялся в небольшом количестве.

2. Hsp70 может служить ранним биомаркером стресса, поскольку активация его синтеза происходит сразу после начала действия стрессового фактора. Показано при тепловом стрессе (37 °С и 40 °С, 2 ч) на примере *A. thaliana*, *E. aureum* (Рис. А, вар. 4), *H. verticillata* (Рис. В, вар. 3); при затоплении водой корневой системы, что вызывает корневую гипоксию, на примере *A. thaliana* (2-4 ч) и суходольных растений *S. latifolium* (1-2 ч).

3. При длительном действии неблагоприятного фактора адаптация растения также требует высокого содержания Hsp70. Показано на примере *M. pulchella*, *M. sylvestris* и *S. latifolium* (Рис. Б, вар. 3, 4) в продолжительный жаркий и засушливый период в природных условиях (средняя дневная температура воздуха 41 °С), а также *S. purpurea* и *E. aureum* (Рис. А, вар. 2, 3) при переувлажнении или затоплении почвы в течение длительного периода времени.

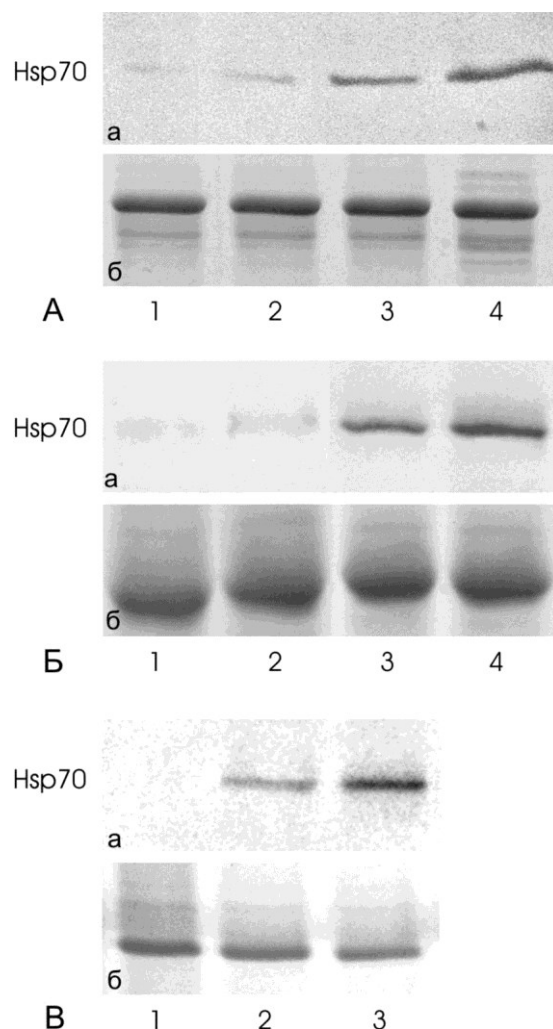
4. Рост растения в условиях, отличных от оптимальных, на протяжении всего онтогенеза проходит при повышенном конститутивном уровне Hsp70. Это дает возможность определения оптимальных условий роста для конкретного вида. Так, повышенный уровень этого белка определялся при росте в наземных условиях у *H. verticillata* (Рис. Б, вар. 2) и *P. stratioides*, в то время как у растений, растущих в воде, не детектировался. В случае *H. verticillata* это дало возможность определения преферентных условий для данного вида, поскольку его водные и суходольные растения друг от друга визуально не отличались.

5. Степень активации синтеза Hsp70 является показателем напряжения стрессовых процессов в клетке. Во-первых, она зависит от дозы действия фактора, что было показано на примере *E. aureum* (Рис. А, вар. 2, 3) при усилении корневой гипоксии (Рис. А, вар. 2, 3). Во-вторых, при одновременном действии нескольких неблагоприятных факторов количество этого белка выше, чем при действии одного фактора. Так, у *S. latifolium* в жаркий засушливый период уровень Hsp70 был выше у растений, растущих на берегу и испытывающих действие как высокой температуры, так и засухи, в отличие от растений, растущих на мелководье (Рис. Б, вар. 3, 4).

6. Способность синтезировать Hsp70 является показателем стойкости организма к неблагоприятным изменениям внешней среды. Подтверждением этому может служить то, что у водных видов *T. natans* и *V. spiralis* этот белок не был обнаружен ни после теплового стресса (40 °С, 2 ч), ни после переноса из воды на влажный мох, приводящих к гибели. Безусловно, адаптационная способность этих видов требует более детального исследования. Но вместе с тем известно, что организмы с низкой резистент-

ностью обладают слабой замедленной реакцией системы синтеза Hsp70 [Шатилина и др., 2010].

Таким образом, полученные результаты подтверждают, что белки Hsp70 являются индикатором состояния и резистентности растений и могут быть использованы для определения диапазона стойкости растений природных и агро-ценозов при действии комплекса неблагоприятных факторов, а также для мониторинга окружающей среды.



**Рис. Вестерн-блоттинг Hsp70 (а) и фрагменты электрофореграмм суммарного белка (б) листьев: А - *Eipremnum aureum*: 1-3 – растения в течение двух недель выдерживались при 19 °С и ограниченном поливе (ВП =  $28 \pm 0,2$  %) (1), обильном поливе (ВП =  $80 \pm 0,6$  %) (2), при затоплении корневой системы (3); 4 - после теплового стресса (40 °С, 2 ч). Б - *Hydrocotyle verticillata*: 1 - растения росли в воде при температуре воды 21 °С, 2 - на берегу при 20 °С и ВП =  $75 \pm 0,5$  %, 3 - водные растения, подвергнутые тепловому стрессу (40 °С, 2 ч). В - *Sium latifolium*: 1, 3 - растения прибрежной водной зоны и 2, 4 – суходола, при следующих условиях: 1 - 24 °С, 2 – 24 °С и ВП =  $52 \pm 0,6$ %; 3 - 41°С; 4 - 41°С и ВП =  $25 \pm 0,2$  %.**

#### Литература

Козеко Л.Е. Количественные изменения белков теплового шока Hsp70 и Hsp90 в реакции проростков гороха на кратковременное действие гипергравитации // Доповіді НАН України, 2009. – №1. – С. 140-143.

Маргулис Б.А., Гужова И.В. Белки стресса в эукариотической клетке // Цитология, 2000. – 42, №4. – С. 323–342.

Шатилина Ж.М., Побежаева Т.П., Грабельных О.И., Бедулина Д.С., Протопопова

М.В., Павличенко В.В., Тимофеев М.А. Белки теплового шока в механизмах стресс-адаптации у байкальских амфипод и палеарктического *Gammarus lacustris* Sars: I. Семейство БТШ70 // Сибирский экологический журнал, 2010. - №1. – С. 57-67.

Bowen J., Lay-Yee M., Plummer K., Ferguson I. The heat shock response is involved in thermotolerance in suspension-cultured apple fruit cells // J. Plant. Physiol., 2002. – 159. – P. 599-606.

Lin B.L., Wang J.S., Liu H.C., Chen R.W., Meyer Y., Barakat A., Delseny M. Genomic analysis of the Hsp70 superfamily in *Arabidopsis thaliana* // Cell Stress & Chaperones, 2001. – 6, №3. – P. 201-208.

Sørensen J.G., Kristensen T.N., Loeschcke V. The evolutionary and ecological role of heat shock proteins // Ecol. Lett., 2003. – №6. – P. 1025-1037.

Vierling E. The roles of heat shock proteins in plants // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 1991. – 42. – P. 579-620.

## ОЦЕНКА ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ЗАРОДЫШЕЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В СЕЛЕКТИВНЫХ УСЛОВИЯХ ЭМБРИОКУЛЬТУРЫ *IN VITRO*

Н.Н. Круглова

Институт биологии Уфимского НЦ РАН, Уфа, [kruglova@anrb.ru](mailto:kruglova@anrb.ru)

Засуха – основной неблагоприятный климатический фактор на Южном Урале. Перед селекционерами остро стоит проблема создания новых засухоустойчивых сортов яровой мягкой пшеницы, перспективных для районирования в регионе.

Одно из современных направлений решения этой проблемы состоит в использовании биотехнологического метода эмбриокультуры *in vitro*, позволяющего полно реализовать различные онтогенетические (в том числе адаптивные) программы развития зародыша, а значит, и растения в целом, поскольку зародыш обладает всеми потенциями взрослого организма [Батыгина, 1987; Терехин, 1997].

Цель работы заключалась в оценке засухоустойчивости изолированных зародышей яровой мягкой пшеницы в селективных условиях эмбриокультуры *in vitro*, имитирующих засуху.

Объектом исследования послужили 10 новых гибридных комбинаций поколения F<sub>1</sub>, полученных в лаборатории селекции яровой пшеницы Селекционного центра по растениеводству ГНУ «Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Россельхозакадемии» (г. Уфа) и любезно предоставленных согласно договору о творческом сотрудничестве на 2011-2015 гг.: Боевчанка х Ирень, Л42938 х Салават Юлаев, Дуэт х Башкирская 28, Э43018 х Тулайковская золотистая, Л42809 х Л42866, Л42875 х Экада 70, Башкирская 26 х Экада 70, Л42875 х 76/98а, Воронежская 16 х Л42833, Боевчанка х Башкирская 26.

Применили метод эмбриокультуры *in vitro* яровой мягкой пшеницы с учетом цитогистологических и физиологических нюансов, в авторской разработке [Круглова, Катасонова, 2009; Круглова, Сельдимирова, 2011]. Для экспериментов использовали донорные растения, выращенные в полевых условиях научного стационара Института биологии Уфимского НЦ РАН (Уфимский район). Использовали зародыши, находящиеся в критической стадии автономности, которую выявляли экспериментально, по способности зародышей, изолированных на последовательных стадиях эмбриогенеза, завершить эмбриогенез и дать нормальные проростки в условиях *in vitro* на простой безгормональной среде (методический приём предложен Т.Б. Батыгиной [1987]). При этом использовали авторскую периодизацию эмбриогенеза пшеницы, специально разрабо-

танную для биотехнологических целей [Круглова, 2012].

Оценку засухоустойчивости зародышей в стадии автономности проводили по их способности прорасти до фазы кущения в культуре *in vitro* в селективных условиях, имитирующих дефицит влаги путем введения в состав среды Мурасиге-Скуга [Murashige, Skoog, 1962] осмотика полиэтиленгликоль молекулярной массой 6000 Да (ПЭГ 6000) в концентрации 25%, понижающего осмотический потенциал питательной среды, но не проникающего в растительные клетки [Долгих, 2005; Круглова, 2012].

Предварительно выявили критическую стадию автономности зародыша изучаемых гибридных комбинаций пшеницы и дали оценку их морфометрических, временных и морфологических показателей: длина зародыша 2.1-2.2 мм, 17.5-20.0 сут после опыления, наличие всех типичных для зародышей злаков органов: щиток (семядоля), лигула (вырост щитка), дифференцированная почечка, состоящая из апекса побега и первого листа, колеоптиль, эпибласт, колеориза, зародышевый корень.

Далее зародыши в критической стадии автономности инокулировали *in vitro* на селективную питательную среду. Установлено, что на условия, имитирующие засуху, зародыши различных генотипов реагировали по-разному. Зародыши гибридных комбинаций Э43018 х Тулайковская золотистая, Л42875 х Экада 70, Л42875 х 76/98а, Башкирская 26 х Экада 70, Л42938 х Салават Юлаев оказались способны в модельных условиях имитации засухи к формированию проростков в фазе кущения к 11-м сут культивирования *in vitro*, тогда как зародыши гибридных комбинаций Боевчанка х Ирень, Дуэт х Башкирская 28, Л42809 х Л42866, Воронежская 16 х Л42833, Боевчанка х Башкирская 26 в таких условиях постепенно дегенерировали. В таблице приведен показатель стресс-устойчивости/неустойчивости зародышей как формирование проростков через 11 сут культивирования *in vitro* на селективной питательной среде.

**Таблица**

**Формирование 11-суточных проростков из автономных зародышей гибридных комбинаций пшеницы в селективных условиях культуры *in vitro***

Гибридная комбинация	Количество проростков, % от инокулированных автономных зародышей
Э43018 х Тулайковская золотистая	11.9±3.4 <sup>2</sup>
Л42875 х Экада 70	8.3±3.3 <sup>2</sup>
Л42875 х 76/98а	3.2±0.6 <sup>2</sup>
Башкирская 26 х Экада 70	3.1±1.3 <sup>1</sup>
Л42938 х Салават Юлаев	2.5±0.9 <sup>3</sup>
Боевчанка х Ирень	0
Дуэт х Башкирская 28	0
Л42809 х Л42866	0
Воронежская 16 х Л42833	0
Боевчанка х Башкирская 26	0

Примечание: <sup>1</sup> – значимо на 0.1%-м уровне, <sup>2</sup> – значимо на 1.0%-м уровне, <sup>3</sup> – значимо на 5.0%-м уровне

Растения-регенеранты в фазе кущения переносили в почвенные условия *ex vitro* и выращивали в щадящем режиме освещенности до фазы полной спелости зерна. Полученные зрелые зерновки переданы селекционерам для полевой оценки по признаку «засухоустойчивость».

Таким образом, гибридные комбинации пшеницы Э43018 х Тулайковская золотистая, Л42875 х Экада 70, Л42875 х 76/98а, Башкирская 26 х Экада 70, Л42938 х Салават Юлаев следует оценить как перспективные стресс-толерантные, автономные зародыши

которых способны к формированию проростков в модельных условиях имитации засухи *in vitro*.

Автор выражает искреннюю благодарность заведующему лабораторией селекции яровой пшеницы ГНУ «Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Россельхозакадемии» к. с.-х.н. В.И. Никонову за предоставленный семенной материал.

*Работа выполнена при поддержке гранта по Программе фундаментальных исследований Отделения биологических наук РАН «Биологические ресурсы России: динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий» (2012-2014 гг.).*

#### Литература

- Батыгина Т.Б. Хлебное зерно. – Л.: Наука, 1987. – 103 с.
- Долгих Ю.И. Соматональная изменчивость растений и возможности ее практического использования (на примере кукурузы): автореф. ... д-ра биол. наук. – М., 2005. – 45 с.
- Круглова Н.Н. Клеточное и тканевое воздействие имитатора засухи ПЭГ 6000 на органы зародыша пшеницы // Биотехнология. Взгляд в будущее: Материалы междунар. конф., Казань, 17-19 апреля 2012 г. – Казань: Казанский ун-т, 2012. – С. 126-127.
- Круглова Н.Н. Периодизация эмбриогенеза пшеницы как методологический аспект биотехнологических разработок // Известия Уфимского НЦ РАН, 2012. – №1. – С. 56-61.
- Круглова Н.Н., Катасонова А.А. Незрелый зародыш пшеницы как морфогенетически компетентный эксплант // Физиология и биохимия культурных растений, 2009. – Т. 41. – №2. – С. 124-131.
- Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*. – Уфа: Гилем, 2011. – 124 с.
- Терехин Э.С. Зародыш // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 2: Семя. – СПб.: Мир и семья, 1997. – С. 294-297.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures // *Physiol. Plant.*, 1962. – V. 15. – №3. – P. 473-497.

### **СПОСОБ ФОРМИРОВАНИЯ СИСТЕМНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К АЛЬТЕРНАРИОЗУ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР ВНЕКЛЕТОЧНЫМИ МЕТАБОЛИТАМИ БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS***

Ю.М. Кулешова, И.А. Гринева, И.А. Феклистова

Белорусский государственный университет, Минск, grineva\_ia@mail.ru

В настоящее время в сельскохозяйственной практике наблюдается тенденция экологизации производства и применения наименее токсичных препаратов защиты растений. Новой вехой в развитии экологически безопасной комплексной защиты посевов от различного рода заболеваний является использование индукторов системной устойчивости растений к фитопатогенам.

Индукцированная системная устойчивость – это явление, которое обеспечивает резистентность к широкому кругу фитопатогенов и паразитов, а также приспособление растения к различным стрессовым факторам абиотической природы в ответ на взаимодействие растительного организма со специфическим индуктором – элиситором. Растения, обработанные индуцирующими агентами, активируют множественные защитные

ответы, которые выражаются в формировании химических и физических барьеров на пути проникновения и развития патогена. Обработка элиситорами нацелена не на уничтожение патогенов, а на активацию естественных защитных механизмов самого растения, что позволяет рассматривать биогенные индукторы резистентности как перспективную основу для создания новых универсальных средств защиты растений широкого спектра действия. Механизмы индукции системной устойчивости, запускаемые непатогенными бактериями, относятся к отдельному типу ISR (от английского induced systemic resistance) взаимодействий и являются наиболее перспективными с практической точки зрения.

Известно, что непатогенные бактерии *Pseudomonas*, которые относятся к PGPR (от английского Plant growth promoting rhizobacteria) – группе ризосферных бактерий, могут индуцировать у многих видов растений неспецифическую устойчивость к фитопатогенам по ISR-типу [Lavicoli et al., 2003; Van Loon, 2000].

Ранее нами было установлено, что непатогенные ризосферные бактерии *P. putida* F19 и *P. aurantiaca* B-162, используемые для создания биопрепаратов «Немацид» и «Аурин», отличаются комплексной антагонистической активностью и способны препятствовать поражению растений почвенными нематодами, стимулировать рост и обеспечивать защиту сельскохозяйственных культур от заболеваний как бактериальной, так и грибной этиологии. При этом обработка семенного материала культурами бактерий *P. putida* F19 и *P. aurantiaca* B-162 при последующем искусственном заражении проростков спорами листовых фитопатогенов снижает поражаемость растений [Кулешова и др., 2008; Максимова и др., 2009].

Принимая во внимание вышеперечисленные данные, нами выдвинуто предположение, что биологическая активность бактерий *P. putida* F19 и *P. aurantiaca* B-162 может проявляться не только при контакте молекулы-антагониста с фитопатогеном, но и посредством индукции системной устойчивости растения к патогенам бактериальными метаболитами.

Элиситорную активность внеклеточных метаболитов *P. putida* F19 и *P. aurantiaca* B-162 исследовали на растениях семи различных видов сельскохозяйственных культур, широко возделываемых на территории Республики Беларусь (рапс, петрушка, морковь, томаты, огурцы, редька масличная и капуста).

Исследования проводили в лабораторных условиях с использованием системы искусственного заражения растений спорами фитопатогенных грибов различных видов рода *Alternaria* в соответствии с трофической видоспецифичностью патогена. Использование в качестве инфекционного агента спор грибов рода *Alternaria* обусловлено тем, что они являются листовыми фитопатогенами, которые вызывают альтернариозы – одни из наиболее распространенных и вредоносных заболеваний различных сельскохозяйственных культур [Doullah, 2006]. Для получения комплекса внеклеточных метаболитов бактерии рода *P. putida* F19 выращивали при постоянной аэрации на круговом шейкере в колбах Эрленмейера в течение 48 ч при температуре 28 °С в жидкой минимальной среде на основе солевого концентрата Канедо, а *P. aurantiaca* B-162 – в бульоне для культивирования микроорганизмов. Грибы культивировали на картофельно-морковном агаре. Комплекс внеклеточных метаболитов изучали в освобожденной от клеток культуральной жидкости, для чего культуру бактерий центрифугировали, осадок удаляли, а супернатант использовали для дальнейшей работы. Семена растений подвергали поверхностной стерилизации и высаживали в стерильный почвогрунт, а на пятые сутки после посева почву обрабатывали раствором изучаемых внеклеточных метаболитов, а в контроле – стерильной средой для культивирования соответствующего штамма. После этого, для исключения возможности взаимодействия фитопатогена с исследуемыми соединениями, растения обильно опрыскивали стерильной водой. На



восьмые сутки проводили искусственное заражение проростков спорами гриба *Alternaria*. Для этого растения опрыскивали суспензией, содержащей примерно  $5 \times 10^4$  спор/мл. Эффективность действия элиситора оценивали на 15-е сутки культивирования растений, исходя из соотношения пораженных растений к их общему количеству в пробе. Для удобства сравнения данных поражаемость в контроле принимали за 100 %.

При анализе результатов экспериментов удалось проследить ряд закономерностей в способности исследуемых растений формировать системную устойчивость и противостоять поражению листовыми фитопатогенами рода *Alternaria* в ответ на обработку почвы внеклеточными метаболитами *P. putida* F19 и *P. aurantiaca* B-162.

Установлено, что растения всех исследованных нами видов сельскохозяйственных культур способны формировать системную устойчивость в ответ на обработку почвы тестируемыми элиситорами, при этом поражаемость растений альтернариозами снижается на 20,8 – 59 % при использовании внеклеточных метаболитов бактерий *P. putida* F19 и на 25,8 – 54, 3 % при использовании метаболитов бактерий *P. aurantiaca* B-162 (таблицы 1, 2).

Показано, что каждый из видов растений имеет собственные особенности формирования системной устойчивости в ответ на обработку почвы препаратами внеклеточных метаболитов бактерий *P. putida* F19 и *P. aurantiaca* B-162.

Как видно из таблиц 1 и 2, при исследовании элиситорных свойств комплексов внеклеточных бактериальных метаболитов большая биологическая активность наблюдалась у препарата на основе *P. aurantiaca* B-162: снижение заболеваемости более чем на 30 % зафиксировано у шести видов растений (петрушки, рапса, моркови, огурцов, капусты и редьки), в то время как внеклеточные метаболиты *P. putida* F19 значительно снижали поражаемость альтернариозом у четырех исследованных видов: рапса, моркови, томатов и редьки.

Высокая эффективность применения комплекса внеклеточных метаболитов бактерий для формирования системной устойчивости растений различных видов и защиты

**Таблица 1**

**Поражаемость (в %) растений альтернариозами после обработки почвы внеклеточными метаболитами бактерий *P. putida* F19**

Поражаемость альтернариозом, %	Вид сельскохозяйственной культуры						
	рапс	петрушка	морковь	томаты	огурцы	редька масличная	капуста
	44,5	70,4	66,9	41,0	77,0	61,8	79,2

**Таблица 2**

**Поражаемость (в %) растений альтернариозами после обработки почвы внеклеточными метаболитами бактерий *P. aurantiaca* B-162**

Поражаемость альтернариозом, %	Вид сельскохозяйственной культуры						
	рапс	петрушка	морковь	томаты	огурцы	редька масличная	капуста
	55,6	45,7	64,5	74,2	64,7	67,4	66,6

их от альтернариозов может быть объяснена наличием в бактериальном супернатанте *P. putida* F19 и *P. aurantiaca* B-162 целого ряда биологически активных веществ (фе-

назинов, сидерофоров пиовердинов и гиббереллинов и др.), индуцирующих системную устойчивость исследуемых растений [Кулешова и др., 2008; Феклистова, Максимова, 2005, 2009].

Таким образом, установлено, что растения исследованных сельскохозяйственных культур способны формировать системную устойчивость ISR-типа в ответ на обработку почвы внеклеточными метаболитами непатогенных ризосферных бактерий *P. putida* F19 и *P. aurantiaca* В-162, при этом наблюдается достоверное существенное снижение поражаемости растений листовыми фитопатогенами рода *Alternaria*.

#### Литература

Кулешова Ю.М., Федорович М.В., Максимова Н.П., Поликсенова В.Д. / Роль бактериального сидерофора пиовердина Pm в антагонистической активности *Pseudomonas putida* КМБУ 4308 по отношению к грибам рода *Alternaria* // Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 2, Химия. Биология. География. – 2008. – № 3. – С. 89–97.

Максимова Н.П. и др./ Генетические подходы создания штаммов-продуцентов биологически активных соединений// Труды БГУ. Серия «Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем». – 2009. – Т. 4, Ч. 2. – С. 15–56.

Феклистова И.Н., Максимова Н.П. Синтез феназиновых соединений бактериями *Pseudomonas aurantiaca* В-162 // Вест. Белорус. гос. ун-та.– Сер. 2: Химия. Биология. География.– 2005. – № 2.– С. 66–69.

Феклистова И.Н., Максимова Н.П. Гиббереллины бактерий *Pseudomonas aurantiaca*: биологическая активность, подходы к получению и использованию продуцентов // Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем: Труды Белорусского государственного университета. Т. 3., ч. 1 / под ред. В.М. Юрина. – Минск: 2009.– С. 168–173.

Doullah, M.A.U. Development of an effective screening method for partial resistance to *Alternaria brassicicola* (dark leaf spot) in *Brassica rapa* / M.A.U. Doullah, M.B. Meah, K. Okazaki // Eur. J. Plant pathol. – 2006. – Vol. 116. – P. 33–43.

Lavicoli A. et al. / Induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* in response to root inoculation with *Pseudomonas fluorescens* CHA0 // MPMI. –2003. – Vol. 16, № 10. – P. 851–859.

Van Loon, LC. Systemic induced resistance / LC. Van Loon // Mechanisms of Resistance to Plant Diseases. – Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, 2000. – P. 521–574.

### **РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ СЕЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ, КУКУРУЗЫ И СОИ**

Т.Е. Ли, С.В. Дидоренко, Б.Т. Байкара,  
У.М. Оразбаева, А.Ш. Омарова, З.Б. Спанкулова

Институт биологии и биотехнологии растений МОН РК, Алматы, tamaralee05@gmail.com

Многие процессы, в которых участвует молекулярный кислород, сопровождаются образованием так называемых активных форм кислорода (АФК). Постоянное образование АФК в растительной клетке является нормой и происходит главным образом в хлоропластах, митохондриях и пероксисомах. У растений накопление АФК ( $O_2^-$  и  $H_2O_2^-$ ) наблюдается при старении тканей, а также при стрессах, вызванных засухой, высокой интенсивностью света, повышенным содержанием озона, низкой температурой, внед-

рением патогена, засолением, действием гербицидов и т.д. В этом случае роль этих опасных молекул двойственная. С одной стороны, они провоцируют окислительные реакции, способные привести клетку к гибели, с другой – выступают как участники сигнальных каскадов, в результате которых происходит экспрессия генов, контролирующих синтез компонентов защитных систем. Как уже отмечалось, имеются предположения, что именно АФК могут быть важными участниками в процессе сигнальной трансдукции водного, температурного и других видов стресса [Suzuki, Mittler, 2006].

Стресс сопровождается не только чрезмерной генерацией АФК, но и изменением активности ферментов-антиоксидантов в ту или другую сторону. Полагают, что уровень антиоксидантной защиты и способность быстро среагировать на опасную ситуацию увеличением активности определяют устойчивость растений к стрессу.

Более подробно причины усиления генерации АФК растительными клетками при действии стрессоров проанализированы в специальных обзорах [Карпец, 2007; Карпец, Колупаев, 2009].

В исследованиях были использованы:

1) засухоустойчивые сортообразцы пшеницы: среднеспелые Северянка, Алем и Мирас; в качестве стандарта был использован сорт Казахстанская 10;

2) засухоустойчивые сортообразцы кукурузы из мировой коллекции: раннеспелые ИКВ-6 – Украина, Россия; ИК65-1 – Украина; стандарт 05438- Казахстан, КазНИИЗиР с периодом вегетации 100-110 дней.

3) сортообразцы культурной сои *Glycine max L.* из мировой коллекции, обладающие признаками засухоустойчивости: сорта Устя (Украина), К589109 (Россия), К583583 НМАС 84 (США), относятся к ультраскороспелой группе с периодом вегетации 85-95 дней. В качестве стандартного сорта использован сорт отечественной селекции - скороспелый Алматы.

Подготовка исходного растительного материала: растения выращивали в условиях оранжереи и на приусадебном участке ИББР, теплицы и полях КазНИИЗиР, пос. Алмалыбак. Подобраны оптимальные условия температурного, светового режимов, состава почвы, условий влагообеспечения и удобрений: оптимальная интенсивность света  $60-70 \cdot 10^3$  лк, температура  $21^{\circ}\text{C}$ , световой период 17 часов с использованием специальных ламп накаливания, полив до 50% полевой влагоемкости. Фенологические наблюдения, уход за растениями и уборку урожая проводили в условиях оранжереи и на приусадебном участке ИББР, теплицы и на полях КазНИИЗиР, пос. Алмалыбак.

Целью настоящего исследования является разработка метода ранней диагностики засухоустойчивости зерновых и зернобобовых культур на основе скрининга растений по физиолого-биохимическим индексам засухоустойчивости: определение RWC (относительное содержание воды), содержание пролина, изучение экспрессии ферментов-антиоксидантов пероксидазы (POD) и супероксиддисмутазы (SOD) на уровнях их энзиматической активности и экспрессии генов с целью повышения эффективности селекции пшеницы, кукурузы и сои.

Относительное содержание воды (RWC) определяли в соответствии с Schonfeld et.al., 1988. Содержание пролина в образцах определяли по методу Bates et. al., 1973. Активность POD отмечали по начальной скорости окисления *o*-дианизидина при комнатной температуре при 460 нм на спектрофотометре. Скорость реакции определяли по тангенсу угла наклона начальных участков кинетических прямых изменения оптической плотности во времени, согласно методу Лебедева и др., 1977. Активность супероксиддисмутазы (SOD) определяли по Beauchamp et. al., 1971.

В условиях почвенной засухи относительное содержание воды в листьях пшеницы понижалось, однако, обезвоживание происходило менее драматично в клетках растений сортов Алем и Казахстанская 10. Обнаружено, что сорт кукурузы ИК65-1 в

меньшей степени испытывал дефицит влаги, в сравнении с сортами 05438 и ИКВ-6, которые оказались менее засухоустойчивыми в наших опытах. Наибольший стресс от недостатка влаги испытывали сортообразцы сои К589109 и Устя, а наименьший – Алматы и К583583.

Биохимическое определение общего пролина показало повышение его продуцирования в условиях стресса для Казахстанской 10 в 9 раз, Северянки – в 18 раз, Мирас – в 15 раз, Алема – в 26 раз; в стрессированных растениях кукурузы в фазе 3-5 листьев наблюдалось повышение содержания пролина для ИК65-1 и для ИКВ6 в 10 раз; в фазе налива бобов происходило повышение содержания пролина в стрессированных растениях Алматы и К589109 – в 3 раза, Устя – в 4.5 и К583583 – в 10 раз. Таким образом, наибольший стресс от недостатка влаги испытывали сортообразцы Алматы и Устя, а наименьший К583583.

Значительные изменения в активности ферментов-антиоксидантов были обнаружены для пшеницы в фазе трубкования-колошения: активность *СОД* в условиях стресса засухи повышалась у всех линий, за исключением стандарта Казахстанская 10, в то время как активность *ПОД* понижалась; для кукурузы в фазах 3-5 листьев и 20 дней до выметывания активность *СОД* и *ПОД* значительно возрастала для сортообразца ИК65-1 – до 70%; для сои в фазах цветения и налива бобов в условиях засухи активность *ПОД* понижалась для всех сортообразцов.

Элементы структуры урожая пшеницы определяли по общепринятым методикам ВИР им. Н.И Вавилова: высота растения, длина колоса главного и бокового побегов, число стеблей / число колосьев, число колосков в колосе, число зерен в колосе, масса зерна с 1 колоса, масса зерна с 1 растения, масса 1000 зерен (для пшеницы); высота растения, количество початков, высота початка, диаметр початка, число зерен в ряду, масса зерна с растения, масса 1000 зерен (для кукурузы) [Изучение... , 1985], высота растения, высота прикрепления нижнего боба, количество боковых ветвей, количество продуктивных узлов, количество бобов с растения, масса семян с растения, масса 1000 семян (для сои) [Корсаков, 1968].

По данным структурного анализа урожая (массе 1000 зерен) для пшеницы, выращенной на полях КазНИИЗиР и участке ИББР, наиболее продуктивными были сорта Казахстанская 10 и Северянка; для кукурузы, выращенной на полевом стационаре КазНИИЗиР, сорт ИКВ-6 оказался наиболее продуктивным, а ИК65-1 наименее; для сои, выращенной в теплице и полевом стационаре КазНИИЗиР, по “массе 1000 зерен” наиболее продуктивными оказались сортообразцы К583583 и Алматы.

Таким образом, определены основные физиолого-биохимические параметры в онтогенезе пшеницы, кукурузы и сои – *RWC*, содержание пролина, ферментативная активность *ПОД* и *СОД*.

Изучены коррелятивные связи между физиолого-биохимическими признаками засухоустойчивости и основными элементами продуктивности структуры урожая, что позволит нам разработать адекватные индексы засухоустойчивости для скрининга важнейших сельскохозяйственных культур пшеницы, кукурузы и сои на ранних этапах онтогенеза.

#### Литература

Карпец Ю.В. О возможных механизмах индуцирования теплоустойчивости проростков пшеницы мягкой и сосны обыкновенной кратковременным действием высокой температуры // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Серія. «Біологія». – 2007. – № 3 (12). – С. 63-70.

Карпец Ю.В., Колупаев Ю. Е. Ответ растений на гипертермию. Молекулярно-клеточные аспекты // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Серія. «Біологія». -2009. -

№1(16). - С.19-38.

Корсаков Н.И., Макашева Р.Х., Адамова О.П. Методика изучения коллекции зернобобовых культур – Л.: ВИР, -1968.-175с.

Лебедева О.В., Угарова Н.Н., Березин И.В. Кинетическое изучение реакции окисления о-дианизидина H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в присутствии пероксидазы хрена / Биохимия. - 1977. - Т.42. - 1372-1379с.

Методические указания. Изучение и поддержание гибридов коллекции кукурузы. - Ленинград. - 1985. – 48с

Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies // Plant Soil. 1973. V. 39. P. 205–207.

Beauchamp C., Fridovich J. Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels // Anal. Biochem. -1971.- V. 44. -P. 276-287.

Schonfeld M.A., Johnson B.F., Mornhiweg D.W. Water relations in winter wheat as drought resistance indicator // Crop Sci. – 1988. - Vol.28. - P.526-531.

Suzuki N, Mittler R. Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction // Physiol. Plant. – 2006. – V. 126. – P. 45-51.

## **УПРОЩЕННЫЙ СПОСОБ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ВЫРОЖДАЮЩЕЙСЯ МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ (*MENTHA PIPERITA* L.)**

Г.И. Мустьяцэ, Н.Д. Рошка, Н.В. Баранова, А.И. Ганя

Институт Генетики и Физиологии Растений АН Молдовы, Кишинэу, musteatag@gmail.com

Среди эфиромасличных и лекарственных растений возделывающихся в Республике Молдова, мята перечная в 1986-90 гг. занимала около 2000 га [Musteață, 2002].

В настоящее время мятное производство в республике на грани исчезновения, как из-за ограниченных возможностей размещения ее на поливных землях, так и по причине вырождения ранее высокопродуктивных, районированных сортов.

Мята перечная, будучи естественным стерильным гибридом [Щербаков, 1976; Мустьяцэ, 1985] размножается только корневищами или рассадой от прорастания корневищ на маточниках.

Понятие «вырождение» у растений, размножающихся вегетативно стеблевыми подземными формированиями (картофель, мята, пасифлора и др.) употребляется для обозначения прогрессирующего снижения урожая (клубней, корневищ, столонов, сырья) и ухудшения его качества в последующих репродукциях вплоть до полной гибели сорта или популяции [Вавилов, 1986].

Это явление давно известно для картофеля и впервые выявлено для мяты. Если в период внедрения в промышленную культуру мята перечная Прилукская-6 и Краснодарская-2 на маточниках формировали урожай корневищ 8-10 т/га [Мустьяцэ, 1971], то в 2010-2011 гг. эти же сорта на поливе формировали только по 2-3 т/га корневищ и мало жизнеспособной рассады. Формирующиеся корневища в период вегетации к осени начинают гнить от основания вплоть до полной их гибели.

Большинство исследователей в настоящее время считают, что вырождение картофеля и, надо полагать, мяты, в основном, это результат комплексного воздействия неблагоприятных условий роста и развития (высокая температура воздуха и нехватка влаги, почвенного питания в период вегетации) и вирусной инфекции [Вавилов, 1986]. Эти факторы сильнее проявляются на фоне естественного старения сортов при отсутствии поддерживающего семеноводства [Вавилов, 1986; Удовицкий, 1981].

Доказано, что экологическое неинфекционное вырождение картофеля обратимо в

благоприятных условиях выращивания. Инфекционное вирусное вырождение передается дочерним растениям в потомстве [Вавилов, 1986]. Доказано, что верхушечная меристема, как и апикальная часть интенсивно растущего побега даже большого растения свободно от вирусной инфекции [Малиновский, 2010]. Эти положения были взяты в основу разработки метода оздоровления вырождающихся сортов мяты.

#### *Материал и методы*

Исследования проводились на сортах Краснодарская-2 и ВНИИЭМК-20, которые в 2008-2010 гг. проявили признаки глубокого вырождения, масса корневищ снизилась до 1-1,5 т/га, рассады сформировалось мало, и большая часть их погибла на плантации. С маточной плантации этих сортов были отобраны единичные, наиболее развитые ко-решки длиной 5-10 см апикальной части, которые были высажены для получения рассады в почвенной питательной среде в защищенном грунте (теплице, солярии). Обычно, у мяты рассада от верхушечных почек более жизнеспособна [Мустьяцэ, 1985]. У первых появившихся растений – рассады после образования 4-5 пар листьев были отделены верхушки, срезанные на 1,5-2 см ниже первой сверху пары настоящих листьев, которые были поставлены в пробирки с питьевой водой (минерализация до 1 г/л, рН–6,8-7,2) для укоренения при температуре 20-25<sup>0</sup>С. В таких условиях верхушечные сегменты рассады через 12-15 дней формируют регенеранты с корневищами длиной 3-3,5 см, которые высаживаются в ячейки кассет с питательной почвенной средой. При достижении рассады из регенерантов высоты 10-12 см с 6-7 парами листьев растения высаживаются в поле, на поливе. Рядом была высажена рассада с маточника мяты, откуда были отобраны корневища для получения первичной рассады для оздоровления. В каждом варианте были высажены по 10 модельных растений в 4-х кратной повторности на поливе.

#### *Результаты исследований*

Опыты 2011 и 2012 гг. показали, что предложенный способ оздоровления оказался весьма эффективным (см. таблицу).

**Таблица**

**Рост и развитие мяты в зависимости от метода оздоровления рассады, 2011-2012 гг.**

Сорт	Растения	Количество корневищ на расте- нии, среднее	Масса корневищ одного расте- ния				Длина корневищ одно- го растения, см		
			всего			в т.ч. живые, среднее	всего		
			годы				годы		
			2011	2012	среднее	2011	2012	среднее	
Красно- дарская- 2	Оздоро- вленные	12,2	46,6	101,3	74,0	72,8	130,4	253,0	191,7
	Выродив- шиеся*	6,7	7,3	25,6	16,5	14,8	30,5	81,0	60,3
ВНИИ ЭМК-20	Оздоро- вленные	16,7	78,4	68,9	73,7	69,1	231,0	250,0	240,5
	Выродив- шиеся*	7,4	4,8	22,5	13,7	9,9	29,1	90,0	59,6

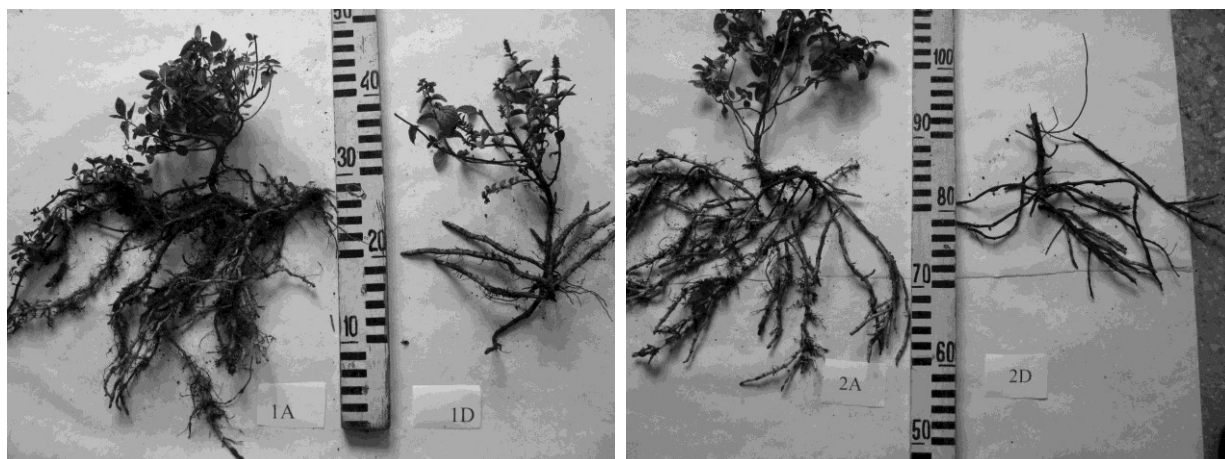
\*контроль

Растения оздоровленной рассады оказались более мощными с габитусами характерными для исходного сорта до вырождения, превосходили не оздоровлённые растения по массе надземной части в 3,0-3,5 раза и образовали более чем в 2 раза больше корневищ, масса корневищ превосходила контрольный вариант в 6-7 раз (см. фото).

Масса корневищ одного оздоровленного растения у сорта Краснодарская-2 составляет в среднем около 73 г, это в пересчете на густоту 70 тыс./га достигает 5 т/га,

при только 1,1 т/га на контроле. И это при том, что оздоровленная рассада была высажена в поле из кассет лишь в конце мая, почти на месяц позже обычного. По этой причине период вегетации этих растений был короче и в сентябре при уборке едва достигли фазы бутонизации. Вегетативное потомство от оздоровленных растений через год оказалось также жизнеспособно с характеристиками здорового растения.

Таким образом, при предложенном методе отбор верхушечной части более развитых корневищ для получения рассады с плантации вырождающейся мяты освобождает растения от неинфицированного типа вырождения, а регенеранты из верхушечной части полученной рассады освобождают мяту от вырождения вирусной природы.



**Мята корневища: А – оздоровленного растения; D – не оздоровленного растения  
Сорта: 1 - Краснодарская-2; 2 - ВНИИЭМК-20.**

#### *Выводы*

1. Разработан эффективный метод оздоровления посадочного материала (рассады) вырождающейся мяты.

2. Метод включает 2 основных приема:

а) отбор более развитых корневищ с плантации с вырожденной мятой и получение из их верхушечной части (5-10 см) первичной рассады;

б) получение оздоровленных регенерантов из апикальных сегментов (с первой парой листьев) от первичной рассады, из которых выращивают оздоровленную рассаду для высадки в поле на поливе.

3. Оздоровленные растения в большой степени восстанавливают способность мяты к формированию развитых корневищ и характерный для сорта урожай сырья.

#### *Литература*

Вавилов П.П., Гриценко В.В., Кузнецов В.С. и др. Растениеводство.- Москва: Агропромиздат, 1986.-512 с.

Малиновский В.И. Механизмы устойчивости растений к вирусам.- Владивосток: Дальнаука, 2010.- 334 с.

Мустяцэ Г.И. Культура мяты перечной. Кишинев: Штиинца, 1985.- 166 с.

Мустяцэ Г.И., Боянжиу Л.Н. Выращивание эфирносов. Кишинев: Карта Молдовеныскэ, 1971.- 72 с.

Удовицкий А.С. Защита картофеля // Химия и жизнь. 1981. № 1.- С. 56-59.

Щербаков А.С., Павленко В.Ф., Васюта Г.Г. и др. Мята перечная // Эфиромасличные культуры.- Москва: Колос, 1976.- С. 229-253

Musteață G. Plantele aromatice și medicinale cultivate din familia Apiaceae.- Chișinău: Centru Ed. UASM, 2002.- 76 p.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВАКУОЛЕЙ И ВАКУОЛЯРНЫХ МЕМБРАН

В.Н. Нурминский<sup>1</sup>, Н.В. Озолина<sup>1</sup>, И.С. Нестеркина<sup>1</sup>,  
А.А. Пилипченко<sup>2</sup>, А.Л. Ракевич<sup>3</sup>, А.П. Лопатин<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, cell@sifibr.irk.ru

<sup>2</sup>Иркутский государственный университет, Иркутск, pilip4encko.nastya@yandex.ru

<sup>3</sup>Иркутский филиал Института лазерной физики СО РАН, Иркутск, rakevich@ilph.irk.ru

<sup>4</sup>Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, mexanik@lin.irk.ru

Известно, что вакуоли растений играют важную роль в метаболизме клетки и принимают участие в ответе на стрессовые воздействия. Вакуолярная мембрана богата в функциональном отношении, она содержит ряд транспортных структур, в том числе протонную АТФазу, РРазу, ионные каналы, переносчики и пр., а также ферменты антиоксидантной защиты. Состояние вакуолярной мембраны в норме и при стрессе во многом определяет протекание физиологических и биохимических процессов. Подвижность структурных компонентов тонопласта как любой клеточной мембраны необходима для осуществления ее физиологических функций. Биофизические параметры вакуолярной мембраны, такие как вязкость и текучесть, а также трансмембранный транспорт и активность мембраносвязанных ферментных систем определяются ее липидными компонентами. Таким образом, вакуолярные мембраны представляют большой интерес для физиологов растений и интенсивно изучаются в настоящее время с применением современных методов исследования.

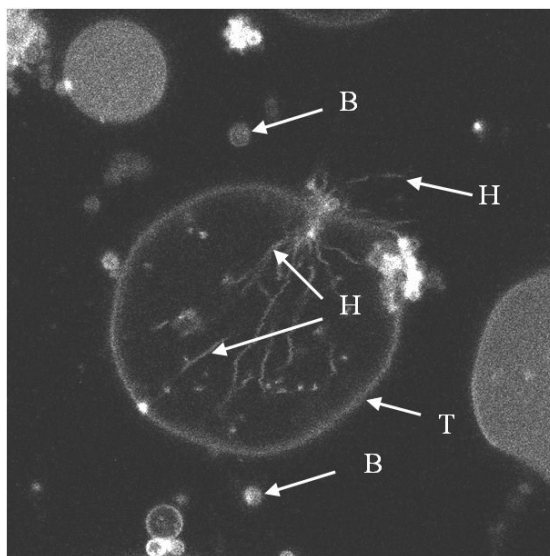
Целью настоящего исследования явилось изучение структурных особенностей строения вакуолярной мембраны с помощью конфокальной микроскопии. Объектом исследования были изолированные вакуоли столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.). Фазовое состояние мембранного бислоя тонопласта было исследовано на лазерных сканирующих конфокальных микроскопах MicroTime 200 (PicoQuant GmbH, Germany), LSM 710 (Carl Zeiss, Germany) и флуоресцентном микроскопе Axio Observer Z1 (Carl Zeiss, Germany) с использованием липофильных зондов (лаурдан, 1-анилинонафталин-8-сульфонат (АНС)). Зонд АНС обладает отрицательным зарядом и располагается в наиболее функционально активном поверхностном слое мембраны. Поскольку АНС имеет отрицательный заряд, его связывание с мембранами зависит от поверхностного заряда мембран, и его можно использовать также и в качестве зонда на наличие заряда на мембранах.

Другой используемый нами амфифильный флуоресцентный зонд - лаурдан - встраивается в мембрану в гидрофильно-гидрофобной области липидного бислоя, при этом остаток лауриновой кислоты располагается в основном в области углеводородных цепочек жирных кислот фосфолипидов, а его флуоресцентный нафталиновый остаток находится на уровне полярных головок фосфолипидов (Bagatolli et al., 1998). Параметры флуоресценции лаурдана используются также для выявления изменений в упорядоченности фосфолипидов в мембранах. Известно, например, что при фазовом переходе от плотной гелевой фазы липидов мембраны к жидкокристаллической фазе молекулы лаурдана, вошедшие в контакт с окружающими их молекулами воды, реагируют характерным сдвигом флуоресценции с 440 до 490 нм (Sanchez et al., 2007). Этот эффект можно выявить посредством оценки генерализованной поляризации (ГП) (Sanchez et al., 2007).

Выявлено, что вакуоли, изолированные в изотоническом растворе выделения (по отношению к клеточному соку корнеплодов), окрашиваются гетерогенно (интенсивность окрашивания варьирует в широких пределах). Кроме самой мембраны на препаратах изолированных вакуолей отчетливо видны везикулы и внутривакуолярные нити



(рис. 1). Везикулярные структуры, отпочковывающиеся от вакуолярной мембраны, и нитеобразные структуры внутри вакуолей уже были обнаружены и на других объектах (Oda et al., 2009). Образование везикул происходит, по видимому, по типу как эндоцитоза, так и экзоцитоза (наблюдаются как внутри, так и снаружи вакуолей). Гипер- или гипоосмотические условия вызывают увеличение количества везикул, при этом часто происходит распад вакуолей на большое количество мелких везикул. Нарушения целостности мембраны не всегда приводят к распаду вакуоли. При возникновении локального дефекта мембраны вакуоль теряет внутреннее содержимое, часть внутривакуолярных нитей может выходить наружу (рис. 1), а затем место дефекта «залечивается» и вакуоль не разрушается.



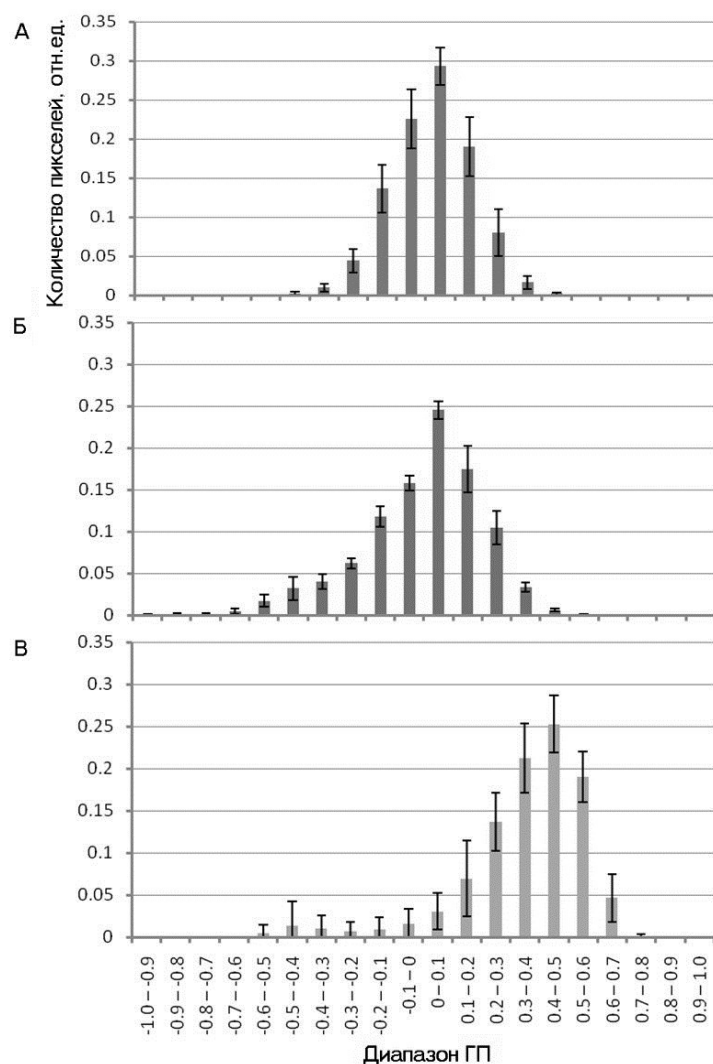
**Рис. 1. Изолированные вакуоли столовой свеклы, окрашенные АНС. Т – тонопласт, В – везикулы, Н – внутривакуолярные нити.**

При окислительном стрессе (добавление параквата в раствор выделения в концентрации 100 мкМ, инкубация 30 мин), интенсивность окрашивания мембраны зондом АНС увеличилась почти в 2 раза. При этом количество вакуолей, сохранивших внутреннее содержимое, уменьшилось с 42% (в контроле) до 12,5%. Это может быть связано с изменением заряда мембраны при возникновении в ней дефектов, вызванных окисляющим агентом.

Эксперименты, связанные с определением фазового состояния бислоя мембраны тонопласта изолированных вакуолей, везикул тонопласта и детергент-нерастворимых участков мембраны (рис. 2), позволили определить величины генерализованной поляризации (ГП) флуоресценции лаурдана. Анализ полученных данных показал, что значения ГП лаурдана в вакуолярной мембране варьируют в пределах от  $-0,5$  до  $+0,5$ , что соответствует жидкокристаллическому состоянию липидов мембраны (Gaus et al., 2006). Среднее значение ГП лаурдана для вакуолярной мембраны было  $0,15$ , тогда как для рафтов –  $0,47$  (см. рис. 2). Это говорит о том, что рафты обладают более плотной упаковкой липидов по сравнению с остальной частью вакуолярной мембраны. Метод конфокальной микроскопии стал одним из средств, позволивших доказать наличие рафтов в вакуолярных мембранах (Озолина и др., 2011; Ozolina et al., 2013).

Таким образом, с помощью конфокальной микроскопии доказано наличие детергент-нерастворимых липид-белковых микродоменов (рафтов) в вакуолярной мембране. Есть основания полагать, что применение метода конфокальной микроскопии в дальнейших исследованиях вакуолярных мембран с использованием различных зондов поз-

ВОЛИТ ВЫЯВИТЬ ВЛИЯНИЕ СТРЕСС-ФАКТОРОВ НА ФАЗОВОЕ СОСТОЯНИЕ ТОНОПЛАСТА.



**Рис. 2. Гистограммы распределения значений ГП флуоресценции лаурдана мембран изолированных вакуолей (А), везикул тонoplastа (Б) и детергент-нерастворимых участков вакуолярной мембраны (В).**

#### Литература

- Озолина Н.В., Нестёркина И.С., Нурминский В.Н., Степанов А.В., Колесникова Е.В., Гурина В.В., Салаяев Р.К., ДАН, 2011. – Т. 438, № 3. – С. 419-421.
- Bagatolli L.A., Gratton E., Fidelio G.D. Water dynamics in glycosphingolipid aggregates studied by LAURDAN fluorescence // *Biophys. J.*, 1998. – Vol. 75. – P. 331-341.
- Gaus K., Zech T., Harder T. Visualizing membrane microdomains by Laurdan 2-photon microscopy // *Mol. Membr. Biol.*, 2006. – Vol. 23. – P. 41-48.
- Oda Y., Higaki T., Hasezawa S., Kutsuna N. Chapter 3. New insights into plant vacuolar structure and dynamics // *Int. Rev. Cell Mol. Biol.*, 2009. – Vol. 277. – P. 103-135.
- Ozolina N.V., Nesterkina I.S., Nurminsky V.N., Kolesnikova E.V., Rakevich A.L., Martynovich E.F., Chernyshov M.Yu., Salyaev R.K. Tonoplast of *Beta vulgaris* L. contains detergent-resistant microdomains // *Planta*, 2013. – Vol. 237. – P. 859-871.
- Sanchez S.A., Tricceri M.A., Gunther G., Gratton E. Laurdan generalized polarization: from cuvette to microscope. In: *Modern research and educational topics in microscopy. Vol. 2* (Eds. A. Mendez-Vilas and J. Diaz), Formatex Publ., Spain, 2007. pp. 1007-1014.

## ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ ФИТОТОКСИЧНОСТИ ЗАГРЯЗНЕННОЙ НЕФТЬЮ ПОЧВЫ

В.И. Полонский, Д.Е. Полонская

Красноярский государственный аграрный университет, Красноярск, vadim.polonskiy@mail.ru

Сегодня значительные территории планеты подвергаются загрязнению нефтью и нефтепродуктами. Для принятия эффективных управленческих решений по дальнейшему использованию нефтезагрязненных земель, в частности в растениеводстве, необходимо иметь представление о степени фитотоксичности таких почв.

Кроме прямого способа определения уровня фитотоксичности почв, основанного на химическом измерении концентрации указанных поллютантов в почве, существует несколько косвенных подходов. Они базируются на ответной реакции организмов природной среды каждого звена экосистемы, в частности ее гетеротрофного и автотрофного ярусов [Гузев и др., 1989; Полонский, Полонская, 2005; Полонский и др., 2005], и модельных организмов, в частности растений. Так, известны способы биотестирования по измерению морфологических показателей на прорастающих семенах [Иванов и др., 2001], проростках [Issoufi et al., 2006] либо по определению физиологических реакций, например, интенсивности гуттации (ИГ) проростков [Реппо, 1979]. Достоинством последнего подхода является его очень высокая чувствительность, основанная на измерении активности работы нижнего концевое двигателя [Полонский, 2005]. На величину ИГ проростков оказывают сильное влияние разнообразные почвенные стресс-факторы: температура, величина рН, концентрация алюминия, степень засоления [Polonskiy, Polonskaya, 1991].

К недостаткам описанных выше биологических подходов к оценке фитотоксичности почв можно отнести трудоемкость (продолжительность во времени) определения эколого-трофических групп почвенных микроорганизмов, необходимость использования параллельного контрольного варианта почвы (фонового) для выращивания растений и определения физиологических параметров, включая измерение величины ИГ.

Целью работы является упрощение основанного на измерении интенсивности гуттации проростков метода определения фитотоксичности нефтезагрязненной почвы.

Семена яровой пшеницы Новосибирская 29 высевали в 0,3-0,5 литровые пластиковые чашки с почвой, содержащей следующие концентрации сырой нефти: 0 (контроль), 0,3; 1,0; 3,0 и 9,0 г/кг сухой почвы. В 1-суточном возрасте, считая от появления всходов, чашки с растениями накрывали сверху пластиковыми стаканами для создания насыщенной влагой атмосферы и измеряли значение ИГ проростков, собирая капли воды на фильтровальную бумагу [Полонский, Сурин, 2003]. Время экспозиции составляло 1 час. Указанные измерения повторяли ежедневно в течение четырех суток. В 5-суточном возрасте обычно у пшеницы появляется второй лист, и, следовательно, проводить измерения ИГ по причине двойных трудозатрат в это время и далее не целесообразно.

В других экспериментах семена пшеницы высевали в чашки Петри с почвой, содержащей те же концентрации сырой нефти. После 4-суточного проращивания подсчитывали долю проросших семян и проводили измерения длины корня и побега проростков. Повторность четырехкратная. Кроме того, в трехлитровых вегетационных сосудах с почвой, содержащей указанные выше концентрации сырой нефти, в течение 40 суток выращивали растения пшеницы в условиях теплицы. По окончании опытов проводили измерения линейных размеров и массы отдельных органов растений. Повторность трехкратная.

Результаты показали, что с повышением концентрации нефти в почве происходи-

ло снижение величины ИГ. При этом в 1-суточном возрасте ИГ у проростков из опытных вариантов начинало значительно отличаться от контроля при содержании нефти в почве 3,0 г/кг, а в 2-4-суточном возрасте этот факт отмечался уже при уровне нефтезагрязнения 0,3-1,0 г/кг. Последние величины соответствуют 1-3 ПДК и говорят о высокой чувствительности показателя ИГ проростков к исследуемому поллютанту.

Рассматривая возрастную динамику ИГ, следует выделить, что как в контроле, так и в двух вариантах опыта с минимальным содержанием нефти в корнеобитаемой среде от 1-2- до 4-суточного возраста проростков величина данного физиологического показателя увеличивалась. Соответственно, для концентраций поллютанта 0,3-1,0 г/кг почвы отношение ИГ, измеренной в 4-суточном возрасте, к ИГ, определенной в 1-суточном возрасте, ( $ИГ_4/ИГ_1$ ) превышало единицу.

При этих же уровнях нефтезагрязнения почвы по сравнению с контролем не регистрировалось отрицательного влияния поллютанта на ростовые параметры как прорастающих семян, так и взрослых растений. Не было отмечено снижения доли проросших семян, размера побега и длины максимального корня у 4-суточных проростков, а также не было найдено достоверного снижения длины и площади листьев главного побега, сухой биомассы надземной части 40-суточных растений.

Следовательно, можно заключить, что при концентрациях нефти 0,3-1 г/кг, по крайней мере, для пшеницы почва не является фитотоксичной, а условия корнеобитаемой среды, когда отношение  $ИГ_4/ИГ_1$  превышает единицу, свидетельствуют об отсутствии фитотоксичности почвы.

При содержании нефти в почве, равном 3 г/кг, величина ИГ с возрастом проростков не изменялась, при этом, естественно, отношение  $ИГ_4/ИГ_1$  равнялось единице. По всей вероятности, при данной концентрации поллютанта регистрировался низкий (начальный) уровень фитотоксичности почвы. Последнее можно заключить из того факта, что ход различных физиологических показателей при указанном уровне нефтезагрязнения по сравнению с контролем имел противоположную направленность: для одних параметров растений было характерно отсутствие реакции либо ее стимулирование, а для других отмечалось ингибирование. Так, доля проросших семян не изменялась, а длина побегов и корней 4-суточных проростков возрастала; значения площади листьев главного побега и надземной части биомассы 40-дневных растений достоверно снижались, а длина листьев и размер колоса главного побега не уменьшались.

При более высоких концентрациях нефти в почве (9 г/кг) происходило снижение величины ИГ 3- и 4-суточных проростков относительно 1-суточных и, соответственно, в данном случае отношение  $ИГ_4/ИГ_1$  было меньше единицы. При этом же уровне нефтезагрязнения корнеобитаемой среды относительно контроля отмечалась только отрицательная реакция как прорастающих семян, так и 40-суточных растений пшеницы. Это может свидетельствовать о высоком уровне фитотоксичности почвы с содержанием нефти 9 г/кг.

Логично предположить, что при дальнейшем повышении уровня поллютанта, при некотором избыточном содержании нефти в почве величина ИГ 3- и 4-суточных проростков неминуемо снизится до нулевого значения (у 1-суточных проростков гуттация регистрироваться все же будет). По всей вероятности, такой уровень поллютанта, при котором отношение  $ИГ_4/ИГ_1$  равно нулю, будет соответствовать очень высокому уровню фитотоксичности почвы. Величину нефтезагрязнения, когда у 1-суточных проростков гуттацию измерить не удастся, очевидно, следует отнести к состоянию гипертоксичности почвы. Все кроме последнего рассмотренные выше сочетания  $ИГ_4$  и  $ИГ_1$  приведены в таблице.

Таким образом, в качестве критерия оценки фитотоксичности нефтезагрязненной почвы можно использовать отношение величины ИГ, измеренной в 3-4 суточном воз-

расте проростков пшеницы, к величине ИГ, полученной для 1-суточных растений. При

Таблица

**Отношение интенсивностей гуттации проростков и соответствующий уровень фитотоксичности почвы при ее загрязнении нефтью**

Показатель*	Относительный уровень фитотоксичности нефтезагрязненной почвы
$ИГ_4 / ИГ_1 > 1$	Отсутствие токсичности
$ИГ_4 / ИГ_1 = 1$	Низкий уровень токсичности
$ИГ_4 / ИГ_1 < 1$	Высокий уровень токсичности
$ИГ_4 / ИГ_1 = 0$	Очень высокий уровень токсичности

\*ИГ<sub>1</sub> - интенсивность гуттации 1-суточных проростков; ИГ<sub>4</sub> - интенсивность гуттации, измеренной в 3- или 4-суточном возрасте растений

этом оценку уровня фитотоксичности почвы необходимо осуществлять в соответствии с градацией, представленной в таблице [Полонский и др., 2012].

Литература

Гузев В.С., Левин С.В., Селецкий Г.И. и др. Роль почвенной микробиоты в рекультивации нефтезагрязненных почв //Сб. Микроорганизмы и охрана почв. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – С. 129-150.

Иванов В.Б., Плотникова И.В., Живухина Е.А. и др. Практикум по физиологии растений. М., 2001. – 158 с.

Полонский В.И. Активность работы нижнего концевое двигателя как показатель физиологического состояния растений //Доклады РАСХН, 2005. – № 4. – С. 19-21.

Полонский В.И., Бородулина Т.С., Полонская Д.Е. Способ оценки фитотоксичности нефтезагрязненной почвы //Патент на изобретение РФ № 2461178. – Оpubл. 20.09.2012.

Полонский В.И., Полонская Д.Е. Какова должна быть предельно допустимая концентрация нефти в почве? //Сб. «Аграрная наука на рубеже веков». – Красноярск: Изд-во КрасГАУ, 2005. – С. 18-20.

Полонский В.И., Полонская Д.Е., Лушникова Е.С. и др. Влияние низких концентраций нефти в почве на рост растений //Сб. «Аграрная наука на рубеже веков». – Красноярск: Изд-во КрасГАУ, 2005. – С. 20-22.

Полонский В.И., Сурин Н.А. Оценка зерновых злаков на устойчивость к неблагоприятным экологическим факторам. – Новосибирск: СО РАСХН, 2003. – 128 с.

Реппо Э.-Х.А. Способ определения фитотоксичности почвы. Авт. свид. СССР № 682183. БИ № 32, 1979.

Issoufi I., Rhykerd R.L., Smiciklas K.D. Seedling growth of agronomic crops in crude oil contaminated soil //Journal of Agronomy and Crop Science, 2006. – Vol. 192. – No. 4. – P. 310-317.

Polonskiy V.I., Polonskaya J.E. Water uptake rate as a possible criterion to evaluate plants for resistance to stress factors In: “Root ecology and its practical application”. - Austria, Vienna: University Bodenkulture, 1991. – P. 763-766.

## РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ СОЗДАНИЯ СОЛЕУСТОЙЧИВЫХ ОБРАЗЦОВ ПШЕНИЦЫ

А.И. Седловский<sup>1</sup>, Л.Н. Тюпина<sup>1</sup>, А.М. Кохметова<sup>1</sup>,  
И.П. Алшоразова<sup>2</sup>, А.К. Маденова<sup>1</sup>, А.И. Тэженова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии и биотехнологии, Алматы РК, gen\_sai@mail.ru

<sup>2</sup>Красноводопадская сельскохозяйственная опытная станция, Чимкент РК

Известно, что около 20% всех культивируемых площадей (более 800 миллионов гектаров) в мире и около половины орошаемых земель подвержены засолению [Munns, 2002; 2005; 2006]. Число генотипов культурных видов растений, способных расти на засоленных почвах, незначительно. Поэтому интенсивно изучаются механизмы, формирующие устойчивость растений к солевому стрессу [Meneguzzo и др., 2000; Cramer, 2002; Sabir, Ashraf, 2007; Ali и др., 2007; El-Hendawy и др., 2009; Терлецкая, 2012].

Казахстан является девятой по площади страной мира, обладающей более чем 20 миллионами гектаров пахотнопригодных земель. Он входит в пятерку лидеров в мире по производству и экспорту пшеницы на душу населения, но потенциал этой отрасли еще не используется в полной мере. По данным Агентства Республики Казахстан по управлению земельными ресурсами засоленные и солонцовые земли составляют 94,9 млн. га – 42,1%. Особенно интенсивное засоление наблюдается в регионах Приаралья, Прикаспия и Прибалхашья, что приводит к увеличению площади солончаковых пустынь в бессточных бассейнах и вторичному засолению орошаемых земель. Это оказывает отрицательное влияние на посевы пшеницы на больших территориях Казахстана.

Выращивание растений в условиях повышенного содержания солей приводит к изменению ряда физиологических и биохимических показателей, что проявляется в угнетении прорастания семян, роста проростков и корней, которое происходит из-за низкого осмотического потенциала почвенного раствора (осмотический стресс), специфических ионных эффектов (солевой стресс), снижении уровня эндогенных фитогормонов, содержания фотосинтетических пигментов и активности фотосинтеза [Ashraf, 2004].

Актуальной задачей остается разработка лабораторных и полевых методов для оценки реакции растений на специфику и уровень действия засоления среды. Из-за неоднородности засоленных почв, скрининг солеустойчивости в поле неэффективен. Поэтому такие исследования лучше проводить при контролируемых условиях.

В настоящее время, хотя и предложен ряд подходов с использованием семян и проростков, изолированных клеток, тканей и корней [Удовенко Г.В., 1988; Генкель П.А., 1970], для решения селекционных задач по отбору и созданию солеустойчивых сортов их поиски все еще остаются актуальными [Munns, 2002; Cuartero и др., 2006].

Цель проводимой работы было отбор солеустойчивых форм озимой и яровой мягкой пшеницы из перспективных образцов, находящихся на различных этапах селекционного процесса, создание коллекции высокопродуктивных сортов, образцов и линий озимой и яровой пшеницы, устойчивых к стрессовым факторам среды и разработка технологии создания солеустойчивых образцов пшеницы.

Для ускорения селекционного процесса использован метод ОСП (SSD – Single Seed Descend), предложенный О.Н. Goulden [Goulden, 1939] и позже усовершенствованный J.T. Grafius [Grafius, 1965], С.А. Brim [Brim, 1966] и А.И. Седловским с соавторами [Седловский и др., 1982; 2009]. Этот метод позволяет значительно сократить время создания константных гомозиготных линий из гибридных популяций поколений (F<sub>2</sub>-F<sub>3</sub>) и тем самым уменьшить материальные и трудовые затраты. С использованием этого ме-

тогда нами отобрано более 700 высокопродуктивных образцов озимой и яровой пшеницы, устойчивых к различным экстремальным факторам внешней среды.

Возможность более детального изучения генетического разнообразия селекционного материала дает использование белкового полиморфизма. Идентификация коллекционного и селекционного материала по запасным белкам дает возможность расширения генетических основ вновь создаваемых сортов, их включения в селекционный процесс, изучения ценности генотипов со специфическими аллельными вариантами глиадинкодирующих локусов [Созинов А.А., 1995; Метаковский Е.В. и др. 1085; Абсаттарова А.С., 2002; Metakovsky E.V., 2002]. В своей работе нами проведен контроль генетической идентичности отобранных перспективных образцов, находящихся на различных этапах селекционного процесса с использованием наиболее полиморфных и информативных запасных белков – глиадинов.

Электрофоретический анализ константных по морфологическим признакам линий позволил выделить образцы гомозиготные по запасному белку – глиадину на ранних этапах селекционного процесса. Выделены перспективные образцы из гибридных популяций (Мироновская-808 х Женис, Целинная-60 х Женис, Саратовская-42 х Омская-29, лютеценс-1272 х Саратовская-70, Целинная-3С х Женис, Комсомольская-63 х Оренбургская-13), однородных по глиадину и характеризующихся высокой продуктивностью. В настоящее время эти образцы проходят успешное испытание в конкурсном селекционном питомнике.

В связи с тем, что уровень солеустойчивости растений закреплен генетически и проявляется лишь при действии этого экстремального фактора, мы применили методы, имеющие в своей основе – создание провокационного фона засоления. Нами поставлена основная цель – проверить идею о том, что солеустойчивые образцы могут быть отобраны среди образцов, устойчивых к другим экстремальным факторам среды (засухе, ржавчинным болезням и т.д.).

На первом этапе была проведена оценка солеустойчивости перспективных линий, образцов и сортов озимой и яровой мягкой пшеницы к хлоридному и сульфатному типам засоления и отбор солеустойчивых генотипов с использованием метода проростков в лабораторных условиях, так как растения наиболее чувствительны к внешним воздействиям в период активного роста и развития. На первом этапе отбора солеустойчивых образцов использовано ранее отобранные 700 образцов, находящихся на различных этапах селекционного процесса. Мы использовали методические рекомендации ВИРа по оценке солеустойчивости больших наборов образцов с тем, чтобы отобрать перспективные по устойчивости формы с использованием методов проростков, позволяющего быстро провести оценку большого количества материала. Отобранные партии здоровых семян (50 шт.) в пробе при 3-кратной повторности проращивали на растворах NaCl и Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 1.68% и 2%. В качестве показателей учета определяли энергию прорастания и процент всхожести. Критерием солеустойчивости при этом служило изменение этих параметров по сравнению с такими же величинами для семян, прораставших на воде, без солей. Чем больше изменялись эти показатели при засолении, тем меньше солеустойчивость растений. Менее солеустойчивые растения характеризуются более резкими изменениями в прорастании семян при увеличении степени засоленности субстрата.

Кроме того, проведен скрининг образцов и перспективных линий озимой и яровой мягкой пшеницы по солеустойчивости к хлоридному и сульфатному типам засоления с использованием разных концентраций солей (0.5%, 1% и 1.5 %). Проведено изучение характера ростовых процессов у проростков пшеницы в условиях солевого стресса, изучение относительного прироста биомассы и оводненности проростков в условиях солевого стресса. В результате проведенной работы выявлены 29 образцов

озимой пшеницы потенциально устойчивых к хлоридному засолению и 47 образцов – к сульфатному засолению, а также отобрано 37 потенциально устойчивых образцов яровой пшенице к хлоридному типу засоления и 47 образцов – к сульфатному типу засоления.

Наибольший интерес представляют 10 образцов озимой пшеницы из селекционного питомника второго года, которые на солевом стрессе NaCl – 1,68% и 2% на 7 сутки показали высокую солеустойчивость. Образцы №№ 263, 268, 277, 293, 266, 288 характеризовались высокой всхожестью и процентом прорастания (91-100%). Образцы №№ 263, 277, 293, 266 проявили такую же высокую всхожесть и устойчивость на солевом стрессе Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 1,68%. Из контрольного питомника интерес представляют 4 потенциально устойчивых к засолению образца озимой пшеницы – №№ 368, 42, 428, 512.

Для исследования физиолого-биохимических механизмов солеустойчивости нами проведено определение содержания свободного пролина в вегетативных органах у отобранных по солеустойчивости генотипов пшеницы и изучение активности окислительного фермента пероксидазы. Установлено, что у потенциально солеустойчивых образцов пролинообразующая способность и активность пероксидазы значительно выше.

Потенциально устойчивые образцы озимой пшеницы испытываются на засоленных почвах с хлоридно-сульфатным засолением с преобладанием сернокислых солей натрия, магния и кальция Кызылординской области, и в Мактааральский районе Южно-Казахстанской области.

#### Литература

Абсаттарова А.С. Идентификация сортов озимой мягкой пшеницы казахстанских агроэкоотипов по блокам компонентов глина // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Алматы. – 2002.

Генкель П.А. Основные пути изучения солеустойчивости растений // Сельскохозяйств. Биол., Т. 5. № 2. – 1970. – С. 50-57.

Метаковский Е.В., Узикова Г.А., Созинов А.А. Полиморфизм глина у некоторых сортов яровой мягкой пшеницы // Селекция и семеноводство. 1985, №2 – С. 12.

Седловский А.И., Мартынов С.П., Мамонов Л.К. Генетико-статистические подходы к теории селекции самоопыляющихся культур. Алма-Ата: Наука Казахской ССР, – 1982. – 198 с.

Седловский А.И., Тюпина Л.Н. Возможности формализации методов селекции пшеницы // Международная научно-практическая конференция, посвященная 75-летию КазНУ им. аль-Фараби и 75-летию биологического факультета «Биологическое разнообразие и устойчивое развитие природы и общества», 12-13 мая Ч. 2, – 2009. – С. 290-292.

Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. – М.: Наука, 1995. – 272 с.

Терлецкая Н.В. Неспецифические реакции зерновых злаков на абиотические стрессы *in vivo* и *in vitro*. – Алматы, 2012. – 206 с.

Удовенко Г.В., Синельникова В.Н., Давыдова Г.В. Оценка солеустойчивости растений. В кн.: Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям (методическое руководство). – Л., – 1988. – С. 85-97.

Ali Z, Salam A, Azhar FM and Khan IA. Genotypic variation in salinity tolerance among spring and winter wheat (*Triticum aestivum* L.) accessions. South Afr. J. Bot. 2007. – 73. S.70-75.

Ashraf M. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. Flora 2004. – 199. S. – 361-376.



Brim C.A. A modified pedigree method of selection in soybeans // *Crop. Sci.* – 1966. – Vol. 6. – P. 220.

Cramer G.R., Quarrie S.A. Abscisic acid is correlated with the leaf growth limitation of four genotypes differing in their response to salinity // *Functional Biology*. 2002. – V. 29. – P. 111-115.

Cuartero J, Bolarin MC, Asins MJ and Moreno V. Increasing salt tolerance in the tomato. *J. Exp. Bot.* 2006/ –57. S. – 1045-1058.

El-Hendawy SE, Ruan Y, Hu Y and Schmidhater U. A comparison of screening criteria for salt tolerance in wheat under field and controlled environmental conditions. *Agron. Crop Sci.* 2009. – 195. S.356-367.

Goulden C.H. Problems in plant selection // *Proc. Seventh Int. Genet. Congr.* – Edinburgh, 1939. – P. 132-133.

Grafius J.E. Short cuts in plant breeding // *Crop. Sci.* – 1965. – Vol. 5. – № 4. – P. 377.

Meneguzzo S, Navari-Izzo F and Izzo R. NaCl effects on water relations and accumulation of mineral nutrients in shoots, roots and cell sap of wheat seedlings. *J. Plant Physiol*, 2000. – 156. – S.711-716;

Metakovsky E.V., Knezevic D., Javornic B. Gliadin alleli composition of Yugoslav winter wheat cultivar // *Euphytica.* – 1992. – V. 54. – P. 285-295.

Munns R. Genes and salt tolerance: bringing them together // *New Phytol* – 2005 – V. 167. – P. 645-663.

Munns R., Husain S., Rivelli AR., James RA., Condon AG., Lindsay MP, Lagudah ES., Schachtman DP., Hare RA. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits // *Plant Soil* – 2002. – V. 247. – P. 93-105.

Munns R., James R.A., Lauchli A. Approaches to increasing salt tolerance of wheat and other cereals // *J. Exp. Bot.* 2006. – V. 57. – P. 1025-1043.

Sabir P and Ashraf M. Screening of local accessions of *Panicum maliaceum* L. for salt tolerance at the seedling stage using biomass production and ion accumulation as selection criteria. *Pakistan J. Bot. Environ.* 2007. – 39. S. 1655–1661.

## **ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ФИТОТОКСИЧНОСТИ ПАХОТНЫХ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ФТОРИДАМИ АЛЮМИНИЕВОГО ПРОИЗВОДСТВА**

Л.Г. Соколова, А.А. Симакова, С.Ю. Зорина, Л.В. Помазкина

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, [agroso@sifibr.irk.ru](mailto:agroso@sifibr.irk.ru)

Изучение ответной реакции полевых культур на техногенное загрязнение почв является одной из актуальных задач, связанных с обеспечением продовольственной безопасности [Доктрина..., 2010]. Для решения проблемы широко используются методы биотестирования, которые дают возможность охарактеризовать степень воздействия изучаемого фактора на систему «почва-растение» [Терехова, 2011]. В отличие от химических методов, они позволяют интегрально оценить токсические свойства почвы, обусловленные наличием комплекса загрязняющих химических веществ.

Для определения фитотоксичности почв агроэкоценозов традиционно используют метод проростков, который основан на фиксации морфологических изменений у тест-культуры в процессе ее роста и развития [Методические рекомендации ..., 1995]. Важным моментом является подбор тест-растений, поскольку их видовая чувствительность к токсикантам неодинакова. На современном этапе для диагностики фитотоксичности почвы по отношению к конкретной полевой культуре, помимо интегральных характеристик роста, в качестве тест-отклика необходимо подбирать специфические физиоло-

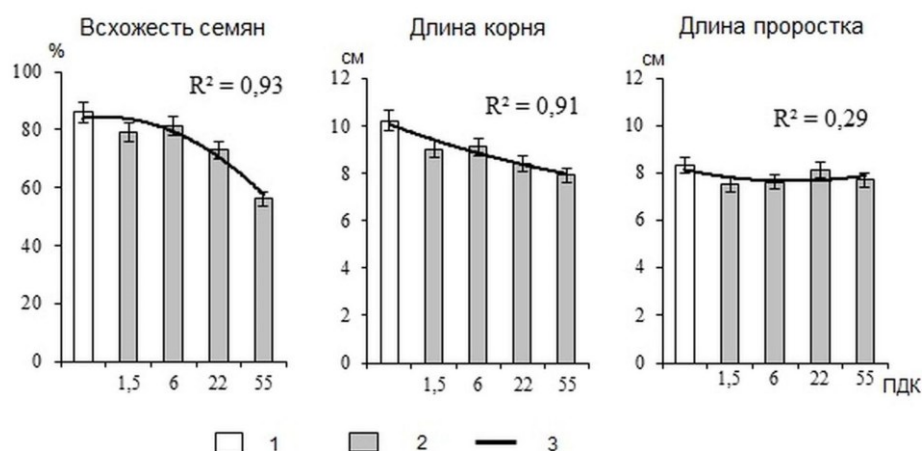
гические параметры, что позволит расширить представление о формировании адаптивных реакций сельскохозяйственных растений на действие абиотических стрессоров.

Большинство работ по определению фитотоксичности загрязненных почв касаются оценки воздействия тяжелых металлов и нефтепродуктов [Сидорова, 2009; Заболотских и др., 2012 и др.]. Для приоритетного в Байкальском регионе загрязнения (фториды алюминиевого производства) подобные исследования малочисленны [Белозерцева, 2000]. В то же время известно, что повышенное содержание легкорастворимых фторсодержащих соединений в почве может способствовать их интенсивной транслокации в системе «почва-растение» [Weinstein, Davison, 2004]. Токсическое действие фтора на растения (1 класс опасности) зависит от его концентрации в почве и эффективности функционирования физиологических барьеров у разных видов полевых культур [Kabata-Pendias, 2001 и др.]. Роль физико-химических свойств почвы в формировании ее фитотоксичности исследована недостаточно [Помазкина и др., 2008].

Необходимость наших исследований обусловлена отсутствием методов ранней диагностики устойчивости растений к фторидам, что особенно важно для отбора полевых культур пригодных для возделывания в импактных зонах, а также для фиторемедиации загрязненных почв. В ходе работы традиционная методика определения фитотоксичности почв, включающая измерение морфометрических параметров (всхожесть семян, длина проростка и корня), была дополнена определением физиологических (активность перекисного окисления липидов, пероксидазы и содержание небелкового азота в тканях). Введение "условного контроля" в виде незагрязненной почвы позволило вычлнить действие фторидов на тест-культуры. Проведена апробация метода на двух типах почв - агросерая и агротемногумусовая, отличающихся уровнем загрязнения фторидами. В качестве тест-культур были исследованы районированные сорта яровой пшеницы («Скала» и «Тулунская -12»), которая широко возделывается в регионе.

В качестве примера представлены результаты по определению фитотоксичности агросерой почвы с разным уровнем загрязнения фторидами (1,5, 6, 22, 55 ПДК) по отношению к яровой пшенице. Высокие уровни загрязнения моделировались дополнительным внесением в загрязненную (6 ПДК) почву фторида натрия, который преобладает в составе твердых выбросов, в дозах 500 и 1000 мг F/кг. Исследования проводили в лабораторном и вегетационном опыте.

Всхожесть зерна пшеницы, как ее первоначальная ответная реакция на загрязнение почвы, с повышением его уровня снижалась (рис.), что подтверждает обратная связь высокой плотности ( $r = -0.98$ ). Торможение роста пшеницы в



**Рис. Оценка фитотоксичности загрязненных фторидами агросерых почв. Обозначения: 1 - незагрязненная почва; 2 - почвы, различающиеся уровнем загрязнения фторидами; 3 - линия тренда.**

начальный период онтогенеза, оцениваемое по длине пятидневных проростков и корней, отмечалось только для корней. Фитотоксичность почв при повышении уровня загрязнения усиливалась, что показал высокий уровень аппроксимации трендов ( $R^2 = 0.91-0.93$ ). Направление тренда показателей всхожести семян и длины корня демонстрирует зависимость «доза-эффект». При уровнях загрязнения 1.5 и 6 ПДК влияние фторидов на прорастание семян, а также на раннее развитие растений проявлялось меньше (вероятно, лаг-фаза), чем при 22 и 55 ПДК. Различия морфометрических показателей пшеницы свидетельствуют о токсическом действии высоких уровней загрязнения. Исследования выявили, что использование семян пшеницы в качестве тест-системы возможно для фитодиагностики уровня загрязнения почвы фторидами алюминиевого производства.

Известно, что ион фтора, являясь сильным окислителем, активирует антиоксидантную систему защиты у сельскохозяйственных растений [Гришко, Сыщиков, 1999]. Нами показано, что при загрязнении пахотных почв фторидами активность слабосвязанной с клеточной стенкой и общей пероксидазы в тканях пшеницы с повышением уровня загрязнения возрастает [Кузнецова и др., 2006]. Наряду с этим выявлено накопление продуктов перекисного окисления липидов. Содержание диеновых конъюгатов в корнях 15-ти дневных растений на сильнозагрязненной почве возрастало в 1,3 раза. Результаты свидетельствуют, что данные реакции можно использовать в качестве маркера стрессового состояния растений, возделываемых на загрязненных фторидами агросерых почвах.

Как неспецифическую реакцию пшеницы на стресс рассматривали накопление азота [Альтергот, 1974; Помазкина, 1989]. Выявили повышение содержания общего азота в тканях десятидневных проростках при возрастании уровня загрязнения, которое сопровождалось увеличением небелковой фракции. Подобные результаты, свидетельствующие о нарушении в процессах синтеза-распада, получены и в модельных вегетационных опытах на почве с высоким уровнем загрязнения (22 ПДК). Доля небелкового азота в надземной массе пшеницы в фазу кущения превышала 50 % от общего [Котова и др., 2002]. В настоящий момент поиск биохимических реакций, которые можно было бы использовать в качестве тест-отклика, продолжается.

Таким образом, предлагаемый подход, использующий в качестве тест-системы яровую пшеницу, может успешно применяться для диагностики фитотоксичности загрязненных фторидами алюминиевого производства почв. Фитотоксичность агросерой почвы с повышением уровня загрязнения усиливалась, о чем свидетельствует снижение всхожести зерна, торможение роста корневой системы, а также повышение активности пероксидазы, процессов перекисного окисления липидов в тканях и доли небелкового азота. Проведенные исследования выявили, что на рост и развитие яровой пшеницы наиболее негативно влияют высокие уровни содержания водорастворимых фторидов в агросерой почве (22-55 ПДК). Однако в настоящее время подобное высокое содержание водорастворимых фторидов в пахотном слое на территории распространения аэровыбросов алюминиевых заводов региона встречается редко. Агросерые почвы лесостепи Байкальской Сибири в условиях загрязнения фторидами не превышающего 15 ПДК можно использовать для возделывания яровой пшеницы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 12-04-98054-р\_сибирь\_a и № 12-04-31770-мол\_a.*

#### Литература

Альтергот В.Ф., Коваль С.Ф., Мордкович С.С. Экология и физиологическая модель интенсивного сорта для Сибири / Сорт и удобрение. Иркутск, 1974. С. 72-82.

Белозерцева И.А. Воздействие техногенных выбросов на почвенный покров

Верхнего Приангарья (на примере зоны влияния Иркутского алюминиевого завода): Автореф. дис. канд. географ. наук. Иркутск, 2000. 20 с.

Гришко В.Н., Сыщиков Д.В. Перекисное окисление липидов и функционирование некоторых антиоксидантных ферментных систем у кукурузы и овса при остром поражении фтористым водородом // Украинский биохимический журнал. 1999. Т. 71. №3. С. 51-57.

Доктрина продовольственной безопасности Российской Федерации от 30.01.2010 // <http://www.mcx.ru/documents/document/show/14857.19.htm>

Заболотских В.В., Васильев А.В., Танких С.Н. Экспресс-диагностика токсичности почв, загрязненных нефтепродуктами // Известия Самарского науч. центра РАН. 2012. Т. 14, №1 (3), С.734-738.

Котова Л.Г., Помазкина Л.В., Репина О.В., Прокофьев А.Ю. Влияние загрязнения фторидами серых лесных почв на продуктивность и минеральное питание яровой пшеницы // Агрехимия. 2002. № 12. С. 31 – 36.

Кузнецова Е.Н., Граскова И.А., Котова Л.Г. Изменение активности пероксидазы в тканях пшеницы в условиях фторидного загрязнения почвы // Мат. Всерос. науч. конф. «Устойчивость растений к неблагоприятным факторам внешней среды». Иркутск, 16-19 сентября 2007. - С.138-142.

Методические рекомендации по выявлению деградированных и загрязненных земель. М., Роскомзем, 1995.

Назаров А.В., Иларионова С.А. Изучение причин фитотоксичности нефтезагрязненных почв // Письма в Международный журнал «Альтернативная энергетика и экология. 2005. №1. С. 60-65.

Помазкина Л.В. Особенности питания яровой пшеницы азотом почвы и удобрения в условиях пониженной температуры почвы в начале вегетации // Агрехимия. 1982. № 5. С. 12 – 19.

Помазкина Л.В., Котова Л.Г., Зорина С.Ю., Рыбакова А.В. Сравнительная оценка состояния агроэкосистем на разных типах почв Прибайкалья, загрязненных фторидами алюминиевого производства // Почвоведение. 2008. № 6. С.1-10.

Сидорова Л. В. Влияние техногенного засоления на фитотоксичность почв // Вестник ОГУ. 2009. №6 (100). С. 611-613.

Терехова В.А. Биотестирование почв: подходы и проблемы // Почвоведение. 2011. № 2. С. 190-198.

Kabata-Pendias A. Trace Elements in Soils and Plants, third ed. CRC Press, New York, 2001. 320 p.

Weinstein L.H., Davison, A.W. Fluorides in the environment. CABI Publishing (875 Massachusetts Avenue, 7th Floor, Cambridge, MA, 02139, USA), 2004. 320 p.

## **РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ РАСТЕНИЙ ТЕХНОГЕННЫХ ЯДЕРНЫХ ЭКОТОПОВ СЕМИПАЛАТИНСКОГО ИСПЫТАТЕЛЬНОГО ПОЛИГОНА**

Б.М. Султанова

Институт ботаники и фитоинтродукции МОН РК, Республика Казахстан, Алматы, sultanovab@mail.ru

Семипалатинский испытательный полигон (СИП) расположен на северо-востоке Центрально-Казахстанского мелкосопочника в степной зоне Казахстана. По ботанико-географическому делению растительный покров СИП относится к подзоне сухих дерновиннозлаковых степей на каштановых почвах и опустыненных полынно-ковыльных степей на светло-каштановых почвах.

Территория полигона 18500 кв.км. Места ядерных взрывов сосредоточены, на 4 опытно-экспериментальных площадках (ОЭП) площадью около 1100 кв.км. Ядерные взрывы (наземные - 117, подземные - 363) привели к созданию техногенных ядерных экотопов, не имеющих аналогов в природе, с МЭД до 35000 мкР/ч.

К техногенным ядерным экотопам, относятся экотопы, сформировавшиеся в результате ядерных взрывов. Техногенные ядерные экотопы, приуроченные к обширной межсопочной равнине ОЭП Опытное поле, подразделяются на два вида: на поверхности почв межсопочных равнин формируются пятна радиоактивного стекловидного шлака с МЭД до 21000 мкР/ч и воронки взрывов с кольцом выброшенного грунта, с крутыми склонами и водоемами на дне, с МЭД до 7000 мкР/ч.

При подземных ядерных взрывах в штольнях гранитного низкогорья Дегелен, в случае нештатной аварийной ситуации, происходит истечение продуктов ядерного взрыва и образование техногенных ядерных экотопов на припортальной площадке, в зонах откола по вершинам гранитных гряд, на техногенных осыпях по склонам гранитных гряд и формирование радиоактивных ручьев, берущих начало в подземных трещинных водах, вскрытых ядерными взрывами. На припортальных участках, зонах откола и на техногенных осыпях МЭД не превышает 5000 мкР/ч, а в поймах радиоактивных ручьев были отмечены участки с МЭД 35000 мкР/ч.

При подземных ядерных взрывах в скважинах на аллювиальных равнинах ОЭП Балапан, в случае нештатной аварийной ситуации, техногенные ядерные экотопы формируются в приустьевой зоне скважины, в водоемах, образовавшихся в устье скважины и фильтрационных водоемах, встречающихся на некотором расстоянии от устья скважины. МЭД достигает 18000 мкР/ч.

Радиоактивные выпадения на территории СИП привели к появлению хронического ионизирующего излучения в естественных фитоценозах с МЭД 500 мкР/ч.

Сопряженное изучение флоры вновь сформированных техногенных ядерных экотопов ОЭП СИП и радиоэкологических условий, в течение 1994-2012 г.г., выявило дифференциацию видов при разных уровнях ионизирующего излучения. Определен радиоэкологический диапазон произрастания 552 сосудистых растений ОЭП СИП.

В настоящее время отсутствуют общепринятые нормы оценки устойчивости объектов окружающей среды к радионуклидному загрязнению. Поэтому для оценки радиоэкологического диапазона произрастания растений нами в качестве критериев были приняты нормы, установленные «Нормами радиационной безопасности РК, 1996», по которым МЭД гамма-излучения делится на фоновые дозы (10-20 мкР/ч), относительно не опасные для биологических объектов (20-60 мкР/ч), потенциально опасные (60-3000 мкР/ч), опасные (3000-6300 мкР/ч) и особо опасные (>6300 мкР/ч).

В Табл. 1 приведены данные по дифференциации числа видов естественных и трансформированных флор техногенных ядерных экотопов в зависимости от МЭД гамма-излучения. Выделенные группы растений по радиорезистентности, конечно, не являются окончательными.

Растения, с высокой радиорезистентностью, произрастающие при МЭД свыше 6300 мкР/ч, представлены следующими видами: *Artemisia frigida*, *A. scoparia*, *Ephedra distachya*, *Festuca valesiaca*, *Kochia scoparia*, *Lotus angustissimus*, *Phragmites australis*, *Potentilla acaulis*, *P. bifurca*, *Psathyrostachys juncea*, *Silene sufrutescens*, *Stipa capillata*, *S. sareptana*, *Typha angustifolia*. На настоящее время обнаружено 14 видов, или 2.5% от общего числа видов.

Растений, обитающих на техногенных ядерных экотопах с МЭД >3000<6300 мкР/ч уже больше – 58, или 10.5%. Они представлены такими видами: *Aeluropus litoralis*, *Artemisia dracuncululus*, *A. gracilescens*, *A. latifolia*, *A. marschalliana*, *A. nitrosa*, *A. schrenkiana*, *A. sieversiana*, *Atraphaxis frutescens*, *Bromopsis inermis*, *Calamagrostis*

*epigeios, Camphorosma monspeliaca, Carex cespitosa, C. melanostachya, C. omskiana, Chamaerhodos erecta, Chamerion angustifolium, Chondrilla laticoronata, Deschampsia cespitosa, Dianthus rigidus, Eleocharis acicularis, Elytrigia repens, Epilobium hirsutum, E. palustre, E. parviflorum, E. tetragonum, Galatella angustissima, Gypsophila patrinii, Heteropappus altaicus, Iris scariosa, Kochia sieversiana, Lagochilus pungens, Lepidium latifolium, Leymus paboanus, Limonium suffruticosum, Linaria altaica, Lycopus exaltatus, Medicago falcata, Melilotus dentatus, Oxytropis floribunda, Plantago cornuti, Potentilla humifusa, Puccinellia dolicholepis, Rumex aquaticus, R. confertus, R. marschallianus, Salix cinerea, S. triandra, S. viminalis, Sanguisorba officinalis, Scutellaria grandiflora, Senecio erucifolium, Spiraea hypericifolia, Stipa lessingiana, Typha laxmannii, Urtica dioica, U. urens, Veronica incana.*

Растения, произрастающие при “потенциально опасных” дозах в диапазоне от 60 до 3000 мкР/ч, разделены нами на группы до 200 мкР/ч, 1000 мкР/ч, 2000 мкР/ч и 3000 мкР/ч. Это самая многочисленная группа (399 видов, 72,3%).

**Таблица**

**Изменение количества видов в естественных и техногенных ядерных экотопах в зависимости от мощности экспозиционной дозы гамма-излучения**

ЭКОТОПЫ	ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ МЭД ПО НРБ-96	МЭД, мкР/ч.	Число видов	% видов	
Естественные экотопы	Фоновая	10-20	552	100%	
	Фоновая	20-30	539	97,6%	
Техногенные ядерные экотопы	Относительно не опасные	>20 <60	<b>81</b>	<b>14,7%</b>	
	Потенциально опасные	=>60<3000	<b>399</b>	<b>72,3%</b>	
		В т.ч.:	=>60<200	98	17,7%
			=>200<1000	195	35,5%
			=1000<2000	63	11,4%
		=>2000<3000	43	7,7%	
Опасные	=>3000<6300	<b>58</b>	<b>10,5%</b>		
Особо опасные	=>6300	<b>14</b>	<b>2,5%</b>		

Виды, произрастающие на техногенных ядерных экотопах, являются видами, произрастающими в естественных и антропогенно-трансформированных зональных и интразональных фитоценозов. Наибольшее количество радиорезистентных видов приурочено к поймам радиоактивных ручьев.

## ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ

Авалян Р.Э. ....	444	Браилко В.А. ....	45
Агаджанян Э.А. ....	444	Бубякина В.В. ....	47
Агафонова Т.А. ....	384	Бузмаков С.А. ....	304
Айдосова С.С. ....	24	Букина О.Г. ....	446, 449
Акимова Г.П. ....	231	Бурханова Г.Ф. ....	109
Алшоразова И.П. ....	478	Бурьянов Я.И. ....	89
Алыбаева Р.А. ....	15, 24, 111	Буцанец П.А. ....	57
Андреев Д.Н. ....	304	Быковская И.А. ....	188
Анисимов А.В. ....	100	Вайшля О.Б. ....	231
Анищенко Л.Н. ....	381	Варакина Н.Н. ....	265
Антонов И.А. ....	384, 386	Вараксина Т.В. ....	389
Антонова Г.Ф. ....	389	Варламов В.П. ....	217, 220
Антонова Е.В. ....	357	Варченко Л.И. ....	371, 375
Артемкина Н.А. ....	18	Васильев В.Г. ....	301
Арутюнян Р.М. ....	444	Васильева Г.Г. ....	103, 159
Асрандина С.Ш. ....	24	Васильева И.В. ....	47
Астафурова Т.П. ....	94	Велегжанинов И.О. ....	54
Астраханцева Н.В. ....	21	Велисевич С.Н. ....	34
Атабаева С.Д. ....	15, 24, 111	Верниченко И.В. ....	188, 307
Атоянц А.Л. ....	444	Виноградова Е.Н. ....	50
Афанасьева Л.В. ....	27	Войников В.К. ....	54, 63, 74, 138, 268
Ахатова А.Р. ....	30, 109	Воронкова Т.В. ....	291
Ахметова А. ....	24	Воропаева Н.Л. ....	217, 220
Багаутдинова Р.И. ....	31	Ганя А.И. ....	469
Бажина Е.В. ....	391	Гармаш Е.В. ....	53, 54
Байкара Б.Т. ....	466	Гаченко А.С. ....	384
Баранова Н.В. ....	469	Генерозова И.П. ....	57, 78
Барышок В.П. ....	294	Геникова Н.В. ....	309
Безель В.С. ....	298	Герасимова Н.Г. ....	262
Белоголова Г.А. ....	231, 394, 398	Глянько А.К. ....	103, 159
Белопухов С.Л. ....	189	Головко Т.К. ....	5, 54, 234, 275, 365
Белянцева Ю.С. ....	156	Голубев А.А. ....	446, 449
Бендер О.Г. ....	34, 94	Гордеева О.Н. ....	394, 398
Бердичевец И.Н. ....	11	Горелова С.В. ....	60
Бердникова О.С. ....	71	Горичев Ю.П. ....	312
Бернер Т. ....	197	Горностаи Т.Г. ....	401
Бидюкова Г.Ф. ....	291	Горшков А.Г. ....	429
Богатырев В.А. ....	446, 449	Горшкова Т.А. ....	97
Богданова Е.С. ....	174, 215	Грабельных О.И. ....	39, 54, 63, 138
Богомолов Ю.В. ....	152	Граскова И.А. ....	74, 419
Бойков Т.Г. ....	363	Гринева И.А. ....	463
Болондинский В.К. ....	452	Далькэ И.В. ....	5, 92
Бондаревич Е.А. ....	36	Дидоренко С.В. ....	466
Борисова Г.Г. ....	335	Димеева Л.А. ....	455
Боровик О.А. ....	39, 54, 63	Дмитриев А.П. ....	83
Боровский Г.Б. ....	3, 125, 294, 401	Доктырбай Г. ....	111
Боярских И.Г. ....	301	Дударева Л.В. ....	74, 121, 176, 426
Бояршинов А.В. ....	42	Дударева Н.В. ....	318

Дыкман Л.А. ....	446, 449	Киселева Г.К. ....	167
Дымова О.В. ....	5, 53, 234, 275, 365	Кислицина М.Н. ....	335
Евдокимова Е.В. ....	66, 207	Клаус А.А. ....	114
Евлаков П.М. ....	224	Кожевникова Н.М. ....	116
Евстигнеев В.П. ....	315	Козеко Л.Е. ....	119, 458
Евстигнеева И.К. ....	315	Коковкина Е.В. ....	5, 53
Егорова И.Н. ....	318	Колесникова Е.В. ....	121
Емельянова Е.В. ....	68	Колупаев Ю.Е. ....	106, 182
Еникеев А.Г. ....	178	Кондратьева В.В. ....	291
Енина О.Л. ....	291	Коновалов М.С. ....	318
Ершова А.Н. ....	71	Константинов Ю.М. ....	197
Ефимова М.В. ....	149	Копытина Т.В. ....	178
Жардамалиева А. ....	24	Копытова Л.Д. ....	125, 365, 368
Железниченко Т.В. ....	389	Кордюм Е.Л. ....	458
Живетьев М.А. ....	74, 194, 419	Королева Н.А. ....	39
Жигачева И.В. ....	78	Коротаева Н.Е. ....	125
Жиренко Н.Г. ....	131	Котенко Т.Б. ....	165
Жуйкова Т.В. ....	298	Кохметова А.М. ....	478
Жук В.В. ....	80	Коцдоржинская Н.Н. ....	36
Жук И.В. ....	83	Круглова Н.Н. ....	461
Жук О.И. ....	86	Кузембаева Н.А. ....	128
Загоскина Н.В. ....	152	Кузнецова Е.Ф. ....	378
Заикина Е.А. ....	30, 109	Кукушкина Т.А. ....	301
Зарубина Е.Ю. ....	320	Кулакова Н.Ю. ....	131, 410
Захарченко Н.С. ....	89	Кулешова Ю.М. ....	463
Захожий И.Г. ....	5, 92	Кумахова Т.Х. ....	133
Зеленихин П.В. ....	283	Курносова Т.Л. ....	188
Зиновьева С.В. ....	262	Лаптева Т.И. ....	121
Зорина С.Ю. ....	481	Ларская И.А. ....	135, 259
Зотикова А.П. ....	34, 94	Ли Т.Е. ....	237, 466
Зубо Я.О. ....	197	Ломоватская Л.А. ....	125, 222
Ибрагимова Н.Н. ....	97	Лопатин А.П. ....	472
Иваницкий А.Е. ....	156	Луговая А.А. ....	106
Иванова К.Г. ....	404	Лысак В.И. ....	189
Ивлева А.Г. ....	156	Лысенко Е.А. ....	114
Иевлева Е.В. ....	262	Любушкина И.В. ....	138, 268
Ионенко И.Ф. ....	100	Маденова А.К. ....	478
Ищенко А.А. ....	103, 159	Макаров О.Е. ....	277
Казановский С.Г. ....	318	Макарова Л.Е. ....	142
Калугина О.В. ....	323	Максимова Л.А. ....	178
Каплина Н.Ф. ....	131, 326, 329	Максимовских С.Ю. ....	145
Караваева А.В. ....	167	Малина Р.Б. ....	147, 257
Каримуллина Э.М. ....	357	Малофий М.К. ....	149
Карпачев В.В. ....	217, 220	Мальшев Р.В. ....	5
Карпец Ю.В. ....	106	Мануйлова А.В. ....	149
Картель Н.А. ....	11	Маракаев О.А. ....	152
Касимова Р.И. ....	30, 109	Машенко Н.Е. ....	257
Касьянова Л.Н. ....	332	Меньшикова Е.В. ....	60
Кенжебаева С.С. ....	15, 24, 111	Мещанинова Н.М. ....	185
Кириллова Н.В. ....	241, 244	Милютин И.Л. ....	247



Минич А.С.	156	Пензина Т.А.	401, 424
Минич И.Б.	156	Перк А.А.	8, 47, 176, 280
Миронова Л.Н.	210	Пермитина В.Н.	354, 455
Митанова Н.Б.	103, 159	Пермякова Н.Л.	156
Михайлов А.Л.	162	Перфильева А.И.	194
Михайлова С.И.	94	Петров К.А.	8, 176, 280
Михайлова Т.А.	407, 429	Пилипченко А.А.	472
Мокшина Н.Е.	97	Побежимова Т.П.	39, 63, 138, 268
Молчанов А.Г.	337	Позолотина В.Н.	357
Молчанова Т.Г.	337	Полонская Д.Е.	475
Морозова Т.И.	340, 424	Полонский В.И.	475
Мошков И.Е.	8, 227	Полякова М.С.	401
Мурач У.А.	200, 203	Помазкина Л.В.	481
Мусяенко М.М.	80	Пономарев А.Г.	47
Мустьяцэ Г.И.	469	Попова Е.В.	368
Мучник Е.Э.	410	Потапова Т.В.	197
Нармуратова Ж.	111	Прадедова Е.В.	200, 203
Насонов А.И.	128	Преловская Е.С.	318
Невинский Г.А.	197	Придача В.Б.	207
Невмержицкая Ю.Ю.	162, 283	Прилепский А.Ю.	446, 449
Недуха Е.М.	165	Путилина Т.Е.	365, 419
Ненько Н.И.	167	Пшибытко Н.Л.	114
Нестеркина И.С.	171, 472	Пятрикас Д.В.	265
Нестеров В.Н.	174, 215	Ракевич А.Л.	472
Нефедьева Е.Э.	189	Ревина Т.А.	262
Ниловская Н.Т.	188	Репкина Н.С.	249
Нимаева О.Д.	200, 203	Реут А.А.	210
Новикова Л.Ю.	342	Рихванов Е.Г.	194, 212, 265, 268
Новичонок А.О.	66	Розенцвет О.А.	174, 215
Нохсоров В.В.	176	Романенко А.С.	125, 222
Нурмаханова А.	24	Романов Р.Е.	360
Нурминская Ю.В.	178	Романова Е.В.	416
Нурминский В.Н.	171, 472	Романова И.М.	419
Обозный А.И.	182	Романова Л.И.	247
Огородников Е.М.	413	Рошка Н.Д.	469
Озолина Н.В.	121, 171, 472	Рубан И.Н.	217, 220
Олехнович Л.С.	291	Рудиковский А.В.	426
Ольчев А.В.	345	Рупышев Ю.А.	363
Олюнина Л.Н.	185	Русалева Т.М.	194, 265
Омарова А.Ш.	466	Русина И.Ф.	78
Оразбаева У.М.	237, 466	Рыкун О.В.	222
Осипенко С.Н.	401	Рымарева Е.В.	194
Осипова Л.В.	188	Рымарь В.П.	31
Оскорбина М.В.	125, 365, 368	Рязанцева Л.А.	224
Павлова В.А.	189	Саакян Л.С.	444
Павлючкова С.М.	192	Сагателян А.К.	444
Панкратов А.Н.	277	Садвокасов Р.Е.	455
Парамонова Н.В.	348, 351	Сазонова Т.А.	207
Пауков А.Г.	251	Салаяев Р.К.	200, 203
Пахратдинова Ж.	24	Самсоненко С.Д.	432

Седловский А.И.	478	Ухов Н.В.	378
Селиванов А.А.	227	Учаева И.М.	277
Селочник Н.Н.	329	Федоров Р.К.	384
Сибгатуллин Т.А.	100	<u>Федосеева Г.П.</u>	31
Симакова А.А.	481	Федосеева И.В.	265
Синькевич М.С.	229	Федяева А.В.	138, 265, 268
Ситнева Л.А.	171	Феклистова И.А.	463
Скоробогатова И.В.	133	Фиговский О.Л.	217, 220
Скрипальщикова Л.Н.	422	Филиппова А.К.	368
Словохотов И.Ю.	11	Французова В.П.	185
Смоляков Б.С.	360	Фуряев В.В.	432
Соколова А.В.	404, 424	Фуряев И.В.	432
Соколова Л.Г.	481	Халатян О.В.	31
Соколова М.Г.	231, 394	Халилуев М.Р.	11
Соколова М.И.	320	Харихонов А.Ю.	60
Соколова М.К.	446	Харпухаева Т.М.	436
Соколова Н.А.	176	Холмогоров С.В.	152
Софронова В.Е.	234, 280	Хохлова Л.П.	42, 272
Спанкулова З.Б.	237, 466	Христин М.С.	275
Спасенкова О.М.	244	Хусаинова Д.Р.	272
Спивак С.Г.	11	Хусаинова Р.Р.	283
Стасова В.В.	389, 422	Цивилева О.М.	277
Степанов А.В.	138, 265, 268	Чаплыгина И.А.	389
Стеценко Л.А.	239	Чепалов В.А.	8, 176, 234, 280
Столбикова А.В.	176, 426	Чернышова М.П.	277
Стрелкова М.А.	241, 244	Шаймуллина Г.Х.	283
Суворова Г.Г.	125, 365, 368	Шайтарова О.В.	156
Судачкова Н.Е.	21, 247	Шальго Н.В.	192
Султанова Б.М.	455, 484	Шаманова С.И.	438
Суткин А.В.	363	Шахматова О.А.	286
Таланова В.В.	249	Швецова Н.Е.	363
Танковская И.Н.	315	Швиденко Н.В.	182
Тараненко Е.Н.	429	Шейко В.В.	289
Тарасенко В.И.	197	Шелепова О.В.	291
Татарина Т.Д.	47	Шематорова Е.К.	11
Тептина А.Ю.	251	Шергина О.В.	440
Тимофеева О.А.	162, 283	Шигарова А.М.	294
Тимошенкова Т.А.	254	Шишкану Г.В.	147, 257
Титов А.Ф.	249	Шпаковский Г.В.	11
Титова Н.В.	147, 257	Шпаковский Д.Г.	11
Трофимова О.И.	259	Шугаев А.Г.	57, 78
Трухан И.С.	200, 203	Юрьева М.А.	156
Тужилкина В.В.	368	Яковлев В.В.	452
Тхюи Занг Ле Ньят	294	Янькова Л.С.	365, 368
Тэженова А.И.	478	Яруллина Л.Г.	30, 109
Тюпина Л.Н.	478	Ястреб Т.О.	106, 182
Удалова Ж.В.	262	Latowski D.	53
Ульяновская Е.В.	167	Strzalka K.	296
Урусов В.М.	371, 375		
Усен К.	455		

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ .....</b>	<b>3</b>
Боровский Г.Б. РЕАКЦИЯ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ НА НЕБЛАГОПРИЯТНЫЕ ТЕМПЕРАТУРНЫЕ УСЛОВИЯ .....	3
Головко Т.К., Далькэ И.В., Захожий И.Г., Дымова О.В., Малышев Р.В., Коковкина Е.В. МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ И АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ ПОЙКИЛОГИДРИЧЕСКИХ ФОТОАВТОТРОФНЫХ ОРГАНИЗМОВ .....	5
Мошков И.Е. КАК РАСТЕНИЯ ВОСПРИНИМАЮТ И ПЕРЕДАЮТ ХОЛОДОВОЙ СИГНАЛ?.....	8
Петров К.А., Перк А.А., Чепалов В.А. КРИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ РАСТЕНИЙ ЯКУТИИ.....	8
Шпаковский Г.В., Спивак С.Г., Картель Н.А., Бердичевец И.Н., Словохотов И.Ю., Халилуев М.Р., Шпаковский Д.Г., Шематорова Е.К. ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ С ГИБРИДНЫМИ СТЕРОИДОГЕННЫМИ СИСТЕМАМИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ НА БИОПАТОГЕНЫ И СТРЕСС .....	11
<b>СЕКЦИЯ 1. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО ОРГАНИЗМА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРИРОДНЫХ И ТЕХНОГЕННЫХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ.....</b>	<b>15</b>
Алыбаева Р.А., Кенжебаева С.С., Атабаева С.Д. ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ И МЕТАЛЛОУСТОЙЧИВОСТИ ГЕНОТИПОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В ТЕХНОГЕННОМ АГРОЦЕНОЗЕ .....	15
Артемкина Н.А. ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ХВОИ <i>JUNIPERUS SIBIRICA (CUPRESSACEAE)</i> В ЭКОТОНЕ ЛЕС-ТУНДРА (ХИБИНЫ, КОЛЬСКИЙ П-ОВ).....	18
Астраханцева Н.В., Судачкова Н.Е. ИЗМЕНЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В ОТВЕТ НА ОПРЫСКИВАНИЕ РАСТВОРОМ СЕРНОЙ КИСЛОТЫ .....	21
Атабаева С.Д., Нурмаханова А., Ахметова А., Айдосова С.С., Жардамалиева А., Кенжебаева С.С., Алыбаева Р.А., Асрандина С.Ш., Пахратдинова Ж. ВЛИЯНИЕ ЗАСОЛЕНИЯ НА РОСТ И АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ ЛИСТЬЕВ И КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ.....	24
Афанасьева Л.В. ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ХВОЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО СТРЕССА .....	27
Ахатова А.Р., Заикина Е.А., Касимова Р.И., Яруллина Л.Г. ИНДУЦИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ PR-БЕЛКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ <i>BIPOLARIS SOROKINIANA</i> .....	30
Багаутдинова Р.И., Рымарь В.П., Халатян О.В., Федосеева Г.П. ВЛИЯНИЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ КЛУБНЕЙ И НАКОПЛЕНИЕ В НИХ УГЛЕВОДОВ ИНУЛИНОВОЙ ПРИРОДЫ У	

РАЗНЫХ СОРТОВ ТОПИНАМБУРА В УСЛОВИЯХ СРЕДНЕГО УРАЛА .....	31
Бендер О.Г., Зотикова А.П., Велисевич С.Н. СТРУКТУРНО- ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛИСТОВОГО АППАРАТА КЕДРА СИБИРСКОГО В ВЫСОТНЫХ И ЛЕСОБОЛОТНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ..	34
Бондаревич Е.А., Коцюржинская Н.Н. ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ПРОРОСТКА РЕЛИКТОВОГО ЗЛАКА <i>MELICA TURCZANINOWIANA</i> OHWI .....	36
Боровик О.А., Грабельных О.И., Королева Н.А., Побежимова Т.П. РОЛЬ СВЕТА В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ АЛЬТЕРНАТИВНОЙ ОКСИДАЗЫ И РОТЕНОН-НЕЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ НАД(Ф)Н-ДЕГИДРОГЕНАЗ МИТОХОНДРИЙ ПРИ ХОЛОДОВОМ ЗАКАЛИВАНИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ .....	39
Бояршинов А.В., Хохлова Л.П. ИЗМЕНЕНИЕ ПРОНИЦАЕМОСТИ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН И СОДЕРЖАНИЯ NO В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ТЕПЛОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ .....	42
Браилко В.А. СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ВОДНОГО ДЕФИЦИТА ЛИСТЬЕВ ВИДОВ РОДА <i>LONICERA</i> L. НА ЮЖНОМ БЕРЕГУ КРЫМА (ЮБК) .....	45
Бубякина В.В., Татарина Т.Д., Перк А.А., Пономарев А.Г., Васильева И.В ДЕГИДРИНЫ В ГОДИЧНОМ ЦИКЛЕ РАЗВИТИЯ <i>BETULA</i> <i>PLATYPHYLLA</i> .....	47
Виноградова Е.Н. УСТОЙЧИВОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ ИЗ ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ ТЕХНОГЕННЫХ ЭКОТОПОВ К ДЕЙСТВИЮ ИНГРЕДИЕНТОВ ЭМИССИЙ В УСЛОВИЯХ <i>IN VITRO</i> .....	50
Гармаш Е.В., Коковкина Е.В., Дымова О.В., Latowski D. ДЫХАНИЕ И ПРО- /АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС ЛИСТА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ К ВЫСОКОЙ ИНСОЛЯЦИИ .....	53
Гармаш Е.В., Грабельных О.И., Велегжанинов И.О., Боровик О.А., Войников В.К., Головко Т.К. ВОВЛЕЧЕНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНОГО ПУТИ ДЫХАНИЯ ПРИ ДЕЭТИОЛЯЦИИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ .....	54
Генерозова И.П., Буцанец П.А., Шугаев А.Г. СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЗАСУХИ И ПОНИЖЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА МИТОХОНДРИИ ЭПИКОТИЛЕЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА .....	57
Горелова С.В., Меньшикова Е.В., Харихонов А.Ю. КОМПОНЕНТЫ АСКОРБАТ-ГЛУТАТИОНОВОГО ЦИКЛА ДРЕВЕСНЫХ ИНТРОДУЦЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО СТРЕССА .....	60
Грабельных О.И., Боровик О.А., Побежимова Т.П., Войников В.К. МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ЭНЕРГОРАССЕИВАЮЩИЕ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР .....	63
Евдокимова Е.В., Новичонок А.О. АДАПТАЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ СЕЗОННО-ВЛАЖНОГО ТРОПИЧЕСКОГО ЛЕСА К ПОВЫШЕННОЙ ОСВЕЩЕННОСТИ, ФОРМИРУЮЩЕЙСЯ	

ПОСЛЕ ОБРАЗОВАНИЯ ЛЕСНЫХ «ОКОН».....	66
Емельянова Е.В. ИЗМЕНЕНИЕ БИОМАССЫ ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩЕГО БАЗИДИОМИЦЕТА <i>CORIOLUS HIRSUTUS</i> В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СРЕДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ.....	68
Ершова А.Н., Бердникова О.С. РОЛЬ СОД И ЛИПОКСИГЕНАЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ СОДЕРЖАНИЯ АФК В МИТОХОНДРИЯХ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ ПРИ ДЕФИЦИТЕ КИСЛОРОДА .....	71
Живетьев М.А., Дударева Л.В., Граскова И.А., Войников В.К. БИОХИМИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ПРЕДБАЙКАЛЬЯ В СВЯЗИ С СУТОЧНЫМИ ПЕРЕПАДАМИ ТЕМПЕРАТУР .....	74
Жигачева И.В., Русина И.Ф., Генерозова И.П., Шугаев А.Г. АНТИРАДИКАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА РЕГУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ «МЕЛАФЕНА» ОПРЕДЕЛЯЮТ УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА К НЕДОСТАТОЧНОМУ УВЛАЖНЕНИЮ .....	78
Жук В.В, Мусиенко М.М. ИНДУКЦИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ЗЛАКОВ К ПРИРОДНЫМ ФЛУКТУАЦИЯМ ТЕМПЕРАТУРЫ.....	80
Жук И.В., Дмитриев А.П. УЧАСТИЕ ЩАВЕЛЕВОЙ КИСЛОТЫ И ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА В ИНДУЦИРОВАНИИ СИСТЕМНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К ВОЗБУДИТЕЛЮ СЕПТОРИОЗА .....	83
Жук О.И. ПРОЦЕССЫ МАКРОМОРФОГЕНЕЗА ЗЛАКОВ В УСЛОВИЯХ АНОМАЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ СРЕДЫ .....	86
Захарченко Н.С., Бурьянов Я.И. ПОЛУЧЕНИЕ БИОБЕЗОПАСНЫХ БЕЗМАРКЕРНЫХ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАЛАНХОЭ ПЕРИСТОГО ( <i>KALANCHOE PINNATA</i> L.) С ПОВЫШЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К БИОТИЧЕСКИМ СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ .	89
Захожий И.Г., Далькэ И.В. БИОАККУМУЛЯЦИЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ВЫСШИХ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ СРЕДЫ РТУТЬЮ .....	92
Зотикова А.П., Астафурова Т.П., Михайлова С.И., Бендер О.Г. МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НАНОЧАСТИЦ ПЛАТИНЫ НА ПРОРОСТКИ ПШЕНИЦЫ.....	94
Ибрагимова Н.Н., Мокшина Н.Е., Горшкова Т.А. МЕХАНИЧЕСКИЙ СТРЕСС И РАСТИТЕЛЬНАЯ КЛЕТОЧНАЯ СТЕНКА ЖЕЛАТИНОЗНОГО ТИПА .....	97
Ионенко И.Ф., Сибгатуллин Т.А., Анисимов А.В. НЕСПЕЦИФИЧНОСТЬ ИЗМЕНЕНИЙ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПЕРЕНОСА ВОДЫ В КОРНЕ КУКУРУЗЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ДАВЛЕНИЯ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ..	100
Ищенко А.А., Глянько А.К., Митанова Н.Б., Васильева Г.Г. АКТИВНОСТЬ НАДФН-ОКСИДАЗЫ В КОРНЯХ ЭТИОЛИРОВАННЫХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РИЗОБИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ И ИОНОВ КАЛЬЦИЯ .....	103
Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Луговая А.А., Ястреб Т.О. ВЛИЯНИЕ	

ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК И ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ СИСТЕМЫ, ГЕНЕРИРУЮЩИЕ АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА .....	106
Касимова Р.И., Заикина Е.А., Бурханова Г.Ф., Ахатова А.Р., Яруллина Л.Г. РОЛЬ ОКСИДОРЕДУКТАЗ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ В ФОРМИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ К ВОЗБУДИТЕЛЮ СЕПТОРИОЗА <i>SEPTORIA</i> <i>NODORUM</i> BERK.....	109
Кенжебаева С.С., Атабаева С.Д., Доктырбай Г., Алыбаева Р.А., Нармуратова Ж. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ НОВЫХ МУТАНТНЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ НА СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ .....	111
Клаус А.А., Пшибытко Н.Л., Лысенко Е.А. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕАКЦИЙ ЯЧМЕНЯ И КУКУРУЗЫ НА КАДМИЙ: СХОДСТВА И ОТЛИЧИЯ .....	114
Кожевникова Н.М. ВЛИЯНИЕ СУЛЬФАТА НЕОДИМА НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ГОРОХА, ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И НАКОПЛЕНИЕ В КОРНЯХ И НАДЗЕМНОЙ ФИТОМАССЕ.....	116
Козеко Л.Е. СИНТЕЗ HSP70 ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ HSP90 В ПРОРОСТКАХ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> (ДОКАЗАТЕЛЬСТВО АВТОРЕГУЛЯЦИИ СИНТЕЗА БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА).....	119
Колесникова Е.В., Озолина Н.В., Дударева Л.В., Лаптева Т.И. ТРАНСПОРТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОТОННЫХ ПОМП ВАКУОЛЯРНОГО ТИПА НА ФОНЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В УСЛОВИЯХ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА .....	121
Коротаяева Н.Е., Оскорбина М.В., Копытова Л.Д., Ломоватская Л.А., Романенко А.С., Суворова Г.Г., Боровский Г.Б. ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ И ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ ДЕГИДРИНОВ В ХВОЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ( <i>PINUS SYLVESTRIS</i> L.) В ТЕЧЕНИЕ ВЕГЕТАЦИОННОГО ПЕРИОДА В СВЯЗИ С ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ .....	125
Кузембаева Н.А., Насонов А.И. ВЛИЯНИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ НУКЛЕИНОВОГО ОБМЕНА У РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ .....	128
Кулакова Н.Ю., Каплина Н.Ф., Жиренко Н.Г. НАКОПЛЕНИЕ ЗАПАСНЫХ ВЕЩЕСТВ ДУБОМ ЧЕРЕШЧАТЫМ В ЭКОТОПАХ С КОНТРАСТНЫМИ ПОЧВЕННЫМИ УСЛОВИЯМИ .....	131
Кумахова Т.Х., Скоробогатова И.В. АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ ПЛОДОВ ЯБЛОНИ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В ГОРАХ НА РАЗНЫХ ВЫСОТАХ..	133
Ларская И.А. ЭНДОГЕННЫЕ ОЛИГОСАХАРИНЫ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ РАСТЕНИЙ – РЕГУЛЯТОРЫ ПРОЦЕССА КОРНЕОБРАЗОВАНИЯ В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА .....	135
Любушкина И.В., Грабельных О.И., Побежимова Т.П., Федяева А.В., Степанов А.В., Войников В.К. ДЫХАТЕЛЬНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ В КЛЕТКАХ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ САХАРНОГО ТРОСТНИКА <i>SACCHARUM OFFICINARUM</i> L. НА НАЧАЛЬНОЙ СТАДИИ	

АКТИВАЦИИ ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ, ВЫЗВАННОЙ ДЕЙСТВИЕМ ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ .....	138
Макарова Л.Е. РОЛЬ НЕГАТИВНЫХ АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ АРОМАТИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ В НАЧАЛЕ ФОРМИРОВАНИЯ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА В НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ СРЕДЫ .....	142
Максимовских С.Ю. РЕАКЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО ОРГАНИЗМА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СТЕРОИДНЫМИ ГЛИКОЗИДАМИ .....	145
Малина Р.Б., Шишкану Г.В., Титова Н.В. МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ ЛИСТЬЕВ ПЕРСИКА СОРТА КОЛЛИНС К СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ ПРИРОДНОГО ХАРАКТЕРА .....	147
Мануйлова А.В., Малофий М.К., Ефимова М.В. ВЛИЯНИЕ СПЕКТРАЛЬНОГО СВЕТА НА РЕГУЛЯЦИЮ УСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ АРАБИДОПСИСА ПРИ ХЛОРИДНОМ ЗАСОЛЕНИИ .....	149
Маракаев О.А., Холмогоров С.В., Богомолов Ю.В., Загоскина Н.В. НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ТУБЕРОИДЕ ОРХИДНЫХ УМЕРЕННОГО КЛИМАТА И КОРРЕЛЯЦИЯ ЭТОГО ПРОЦЕССА СО СТЕПЕНЬЮ МИКОТРОФНОСТИ .....	152
Минич А.С., Минич И.Б., Шайтарова О.В., Пермязова Н.Л., Белянцева Ю.С., Юрьева М.А., Ивлева А.Г., Иваницкий А.Е. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> (L.) НЕУНН. ПРИ АДАПТАЦИИ К УФ-А РАДИАЦИИ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ .....	156
Митанова Н.Б., Глянько А.К., Ищенко А.А., Васильева Г.Г. ВЗАИМОСВЯЗЬ РОСТА ЭТИОЛИРОВАННЫХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА С УРОВНЕМ ОКСИДА АЗОТА (NO) В КОРНЯХ .....	159
Михайлов А.Л., Невмержицкая Ю.Ю., Тимофеева О.А. ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ЛЕКТИНОВ В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ И СТЕВИОЗИДА .....	162
Недуга Е.М., Котенко Т.Б. ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНОГО ЗАТОПЛЕНИЯ НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И СОДЕРЖАНИЯ ЛИГНИНА В ЛИСТЬЯХ <i>SAGITTARIA SAGITTIFOLIA</i> L. ....	165
Ненько Н.И., Киселева Г.К., Караваева А.В., Ульяновская Е.В. АДАПТАЦИОННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ К ЗАСУХЕ СОРТОВ ЯБЛОНИ РАЗЛИЧНОЙ ПЛОИДНОСТИ .....	167
Нестеркина И.С., Озолина Н.В., Ситнева Л.А., Нурминский В.Н. ВЛИЯНИЕ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА СОДЕРЖАНИЕ ТИОЛОВЫХ ГРУПП В КОРНЕПЛОДАХ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ ( <i>BETA VULGARIS</i> L.) .....	171
Нестеров В.Н., Розенцвет О.А., Богданова Е.С. ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА ЛИПИДОВ ГАЛОФИТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТРАТЕГИИ ГАЛОТОЛЕРАНТНОСТИ .....	174
Нохсоров В.В., Столбикова А.В., Чепалов В.А., Соколова Н.А., Перк А.А., Дударева Л.В., Петров К.А. ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ И	

КОРМОВАЯ ЦЕННОСТЬ <i>EQUISETUM VARIEGATUM</i> , <i>E. SCIRPOIDES</i> И <i>E. ARVENSE</i> .....	176
Нурминская Ю.В., Максимова Л.А., Копытина Т.В., Еникеев А.Г. ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕННОЙ ОСВЕЩЁННОСТИ .....	178
Обозный А.И., Колупаев Ю.Е., Швиденко Н.В., Ястреб Т.О. АНТИОКСИДАНТЫ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ЗАКАЛИВАЮЩИХ И ПОВРЕЖДАЮЩИХ ТЕПЛОВОМ И ОСМОТИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИЯХ .....	182
Олюнина Л.Н., Французова В.П., Мещанинова Н.М. ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИДАЗЫ АПОПЛАСТНОГО И ЦИТОЗОЛЬНОГО КОМПАРТМЕНТОВ ПРИ ГИПЕРТЕРМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ПРОРОСТКИ ПШЕНИЦЫ .....	185
Осипова Л.В., Ниловская Н.Т., Верниченко И.В., Курносова Т.Л., Быковская И.А. ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ НА РЕАЛИЗАЦИЮ АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ .....	188
Павлова В.А., Нефедьева Е.Э., Лысак В.И., Белопухов С.Л. ДЕЙСТВИЕ ИМПУЛЬСНОГО ДАВЛЕНИЯ НА КАЧЕСТВО СЕМЯН И ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ ГРЕЧИХИ .....	189
Павлючкова С.М., Шалыго Н.В. СОДЕРЖАНИЕ АЛЬФА- И ГАММА- ТОКОФЕРОЛА В РАСТЕНИЯХ ТАБАКА ( <i>NICOTIANA TABACUM</i> L.), ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ СМЫСЛОВЫМ ГЕНОМ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ, В УСЛОВИЯХ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА .....	192
Перфильева А.И., Рымарева Е.В., Рихванов Е.Г., Живетьев М.А., Русалева Т.М. ВЛИЯНИЕ ЗАРАЖЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕМ КОЛЬЦЕВОЙ ГНИЛИ НА СИНТЕЗ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА В РАСТЕНИЯХ КАРТОФЕЛЯ <i>IN</i> <i>VITRO</i> .....	194
Потапова Т.В., Зубо Я.О., Тарасенко В.И., Невинский Г.А., Бернер Т., Константинов Ю.М. ТРАНСКРИПЦИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ АРАБИДОПСИСА ПРИ НАРУШЕНИИ РАБОТЫ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ .....	197
Прадедова Е.В., Трухан И.С., Нимаева О.Д., Мурач У.А. Салаяев Р.К. ВАКУОЛЬ КАК ГЛАВНОЕ ЗВЕНО СИСТЕМЫ ДЕТОКСИКАЦИИ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ .....	200
Прадедова Е.В., Трухан И.С., Нимаева О.Д., Мурач У.А. Салаяев Р.К. РЕДОКС- СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА ВАКУОЛЕЙ И ПЛАСТИД КОРНЕПЛОДОВ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ .....	203
Придача В.Б., Евдокимова Е.В., Сазонова Т.А. ЭКОЛОГО- ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ <i>BETULA PENDULA</i> ROTH В УСЛОВИЯХ РАЗНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ НИТРАТНЫМ АЗОТОМ .....	207
Реут А.А., Миронова Л.Н. ВОДОУДЕРЖИВАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ЛИСТЬЕВ ПИОНОВ В СВЯЗИ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЗАСУХЕ .....	210



Рихванов Е.Г. ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ ПРИ СТРЕССЕ .....	212
Розенцвет О.А., Нестеров В.Н., Богданова Е.С. ЛИПИДЫ ГАЛОФИТОВ СЕМЕЙСТВА <i>CHENOPODIACEAE</i> VENT.: СОДЕРЖАНИЕ, ДИНАМИКА, ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ ПРОИЗРАСТАНИЯ .....	215
<u>Рубан И.Н.</u> , Воропаева Н.Л., Варламов В.П., Карпачев В.В., Фиговский О.Л. ЭЛИСИТОРЫ КАК ОДИН ИЗ ВОЗМОЖНЫХ ФАКТОРОВ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ПРИРОДНЫХ УСЛОВИЯХ И ТЕХНОГЕННОЙ СРЕДЕ .....	217
<u>Рубан И.Н.</u> , Воропаева Н.Л., Варламов В.П., Карпачев В.В., Фиговский О.Л. (НАНО)ЧИПЫ НА ОСНОВЕ РАЗЛИЧНЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ПРИРОДНЫХ УСЛОВИЯХ И ТЕХНОГЕННОЙ СРЕДЕ .....	220
Рыкун О.В., Ломоватская Л.А., Романенко А.С. ВАКУОЛЬ РАСТЕНИЙ КАК СИГНАЛЬНЫЙ КОМПАРТМЕНТ .....	222
Рязанцева Л.А., Евлаков П.М. ОСОБЕННОСТИ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ( <i>PINUS SYLVESTRIS</i> L.) НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ТЕХНОГЕННЫХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ В УСЛОВИЯХ ВОРОНЕЖА .....	224
Селиванов А.А., Мошков И.Е. ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ДЕСАТУРАЗ <i>A. THALIANA</i> COL-0 ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИПОТЕРМИИ .....	227
Синькевич М.С. АКТИВНОСТЬ КЛЮЧЕВЫХ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ, ИНДУЦИРОВАННОМ ГИПОТЕРМИЕЙ, У РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ( <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> L.) .....	229
Соколова М.Г., Белоголова Г.А., Акимова Г.П., Вайшла О.Б. ВЛИЯНИЕ АССОЦИАТИВНЫХ БАКТЕРИЙ НА НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И РОСТ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ НА ТЕХНОГЕННЫХ ПОЧВАХ .....	231
Софронова В.Е., Чепалов В.А., Дымова О.В., Головки Т.К. РОЛЬ ПИГМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ ВЕЧНОЗЕЛЕННОГО КУСТАРНИЧКА <i>ERHEDRA MONOSPERMA</i> В АДАПТАЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА К НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ .....	234
Спанкулова З.Б., Оразбаева У.М., Ли Т.Е. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИНДЕКСЫ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ .....	237
Стеценко Л.А. ФИТОРЕМЕДИАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ <i>SALVIA OFFICINALIS</i> L. К МЕДИ И НИКЕЛЮ .....	239
Стрелкова М.А., Кириллова Н.В. ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ НЕКОТОРЫХ ПЕРВИЧНЫХ И ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В УСТОЙЧИВОСТИ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ К НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ .....	241

Стрелкова М.А., Спасенкова О.М., Кириллова Н.В. ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ И РОСТОВЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТИТЕЛЬНОГО ОРГАНИЗМА .....	244
Судачкова Н.Е., Милютин И.Л., Романова Л.И. РЕАКЦИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ НА ВОДНЫЙ ДЕФИЦИТ .....	247
Таланова В.В., Титов А.Ф., Репкина Н.С. УЧАСТИЕ ГЕНОВ ХОЛОДОВОГО ОТВЕТА В РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ НА СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ.....	249
Тептина А.Ю., Пауков А.Г. ЛОКАЛИЗАЦИЯ НИКЕЛЯ В ТКАНЯХ ГИПЕРАККУМУЛЯТОРА <i>ALYSSUM OBOVATUM</i> (С.А. МЕУ.) TURCZ. ....	251
Тимошенкова Т.А. ВОДОУДЕРЖИВАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ И ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ СОРТОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ СТЕПНОЙ ВОЛЖСКОЙ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ГРУППЫ В СТЕПИ ОРЕНБУРГСКОГО ПРЕДУРАЛЬЯ .....	254
Титова Н.В., Шишкану Г.В., Малина Р.Б., Мащенко Н.Е. ДЕЙСТВИЕ НАТУРАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА ЛИНАРОЗИД НА ФОТОСИНТЕЗ И ПИГМЕНТЫ ПЛОДНОСЯЩИХ РАСТЕНИЙ АБРИКОСА .....	257
Трофимова О.И., Ларская И.А. НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ СТенок ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ АДАПТАЦИИ .....	259
Удалова Ж.В., Ревина Т.А., Герасимова Н.Г., Зиновьева С.В., Иевлева Е.В. РОЛЬ ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЯХ РАСТЕНИЙ ТОМАТОВ К ГАЛЛОВОЙ НЕМАТОДЕ .....	262
Федосеева И.В., Варакина Н.Н., Русалева Т.М., Федяева А.В., Пятрикас Д.В., Степанов А.В., Рихванов Е.Г. МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ РЕТРОГРАДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА HSP104 <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> .....	265
Федяева А.В., Степанов А.В., Любушкина И.В., Побежимова Т.П., Рихванов Е.Г., Войников В.К. ПОВЫШЕНИЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА И УВЕЛИЧЕНИЕ ПРОДУКЦИИ АФК В КЛЕТКАХ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ТЕПЛОМ ВОЗДЕЙСТВИИ .....	268
Хохлова Л.П., Хусаинова Д.Р. ОТВЕТЫ ГЕНА МАЛИК-ЭНЗИМА (TANADP-МЕ2) ПШЕНИЦЫ НА СТРЕССОВЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ .....	272
Христин М.С., Дымова О.В., Головки Т.К. ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ ЖИВУЧКИ ПОЛЗУЧЕЙ: МОДИФИКАЦИЯ ПИГМЕНТ-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ПРИ АДАПТАЦИИ К УСЛОВИЯМ ПРОИЗРАСТАНИЯ .....	275
Цивилева О.М., Учаева И.М., Чернышова М.П., Макаров О.Е., Панкратов А.Н. ГЕРБИЦИД "РАУДАП" И ГЛИФОСАТ - ЭФФЕКТОРЫ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ВЫСШЕГО ГРИБА .....	277

Чепалов В.А., Перк А.А., Софронова В.Е., Петров К.А. УЧАСТИЕ ЛЮТЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМОВ К НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ .....	280
Шаймуллина Г.Х., Хусаинова Р.Р., Невмержицкая Ю.Ю., Зеленихин П.В., Тимофеева О.А. ПАТОГЕН-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ЛЕКТИНОВЫЕ БЕЛКИ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ .....	283
Шахматова О.А. АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ КАК ФАКТОР УСТОЙЧИВОСТИ ЧЕРНОМОРСКИХ МАКРОВОДОРОСЛЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ТАКСОНОВ К ХОЗЯЙСТВЕННО-БЫТОВОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ.....	286
Шейко В.В. ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ НА УТОЙЧИВОСТЬ ДЕРЕВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ К ВЫПРЕВАНИЮ ПОД МОЩНЫМ СНЕЖНЫМ ПОКРОВОМ .....	289
Шелепова О.В., Кондратьева В.В., Воронкова Т.В., Олехнович Л.С., Бидюкова Г.Ф., Енина О.Л. ИЗМЕНЕНИЕ БИОМЕТРИЧЕСКИХ И НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ РАСТЕНИЙ МЯТЫ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ СВЕТА НЕИЗМЕННОГО СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА .....	291
Шигарова А.М., Боровский Г.Б., Тхюи Занг Ле Ньят, Барышок В.П. ВЛИЯНИЕ ГЕРМАТРАНОЛА НА УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ К ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ .....	294
Strzalka K. ROLE OF LIPIDS IN MOLECULAR MECHANISM OF THE ХАНТНОРНУЛЛ CYCLE .....	296
<b>СЕКЦИЯ 2. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НЕГАТИВНЫХ ФАКТОРОВ РАЗНОГО ГЕНЕЗИСА .....</b>	<b>298</b>
Безель В.С., Жуйкова Т.В. ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ КАК ФАКТОР ИХ УСТОЙЧИВОСТИ К ХИМИЧЕСКОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ СРЕДЫ .....	298
Боярских И.Г., Васильев В.Г., Кукушкина Т.А. ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ <i>LONICERA CAERULEA</i> БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛОКАЛЬНЫХ ЗОНАХ ГЕОЛОГИЧЕСКОЙ НЕОДНОРОДНОСТИ (ГОРНЫЙ АЛТАЙ) .....	301
Бузмаков С.А., Андреев Д.Н. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКОСИСТЕМ СОСНОВЫХ ЛЕСОВ НА ОБРАТИМОЙ СТАДИИ АНТРОПОГЕННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ .....	304
Верниченко И.В. ЭНДОГЕННОЕ ОБРАЗОВАНИЕ НИТРАТОВ В ТКАНЯХ РАЗЛИЧНЫХ РАСТЕНИЙ В СТЕРИЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ .....	307
Геникова Н.В. ИЗМЕНЕНИЯ В НАПОЧВЕННОМ ПОКРОВЕ СОСНЯКА БРУСНИЧНОГО ПОСЛЕ УСЫХАНИЯ ЧАСТИ ДРЕВОСТОЯ.....	309
Горичев Ю.П. ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ НАПОЧВЕННОГО ПОКРОВА НЕКОТОРЫХ КОРЕННЫХ И ПРОИЗВОДНЫХ	

(ПОСЛЕРУБОЧНЫХ) ЛЕСНЫХ БИОЦЕНОЗОВ ЮЖНО-УРАЛЬСКОГО ЗАПОВЕДНИКА .....	312
Евстигнеева И.К., Танковская И.Н., Евстигнеев В.П. АЛЬГОЦЕНОЗЫ ОБРАСТАНИЯ ИСКУССТВЕННЫХ РИФОВ В УСЛОВИЯХ ШТОРМОВОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ (КРЫМ, ЧЕРНОЕ МОРЕ) .....	315
Егорова И.Н., Коновалов М.С., Дударева Н.В., Преловская Е.С., Казановский С.Г. ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА И СТРУКТУРЫ ГРУППИРОВОК ВОДОРΟΣЛЕЙ В АССОЦИАЦИЯХ С МОХООБРАЗНЫМИ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ ОБИТАНИЯ .....	318
Зарубина Е.Ю., Соколова М.И. ВЛИЯНИЕ ПОДОГРЕТЫХ СБРОСНЫХ ВОД НА СОСТАВ, СТРУКТУРУ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ВЫСШЕЙ ВОДНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ ВОДОЕМА – ОХЛАДИТЕЛЯ БЕЛОВСКОЙ ГРЭС (ЮГ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ) .....	320
Калугина О.В. СТРУКТУРА И ДИНАМИКА ЛЕСНЫХ ФИТОЦЕНОЗОВ В ПРЕДБАЙКАЛЬЕ НА УЧАСТКАХ, ЗАГРЯЗНЯЕМЫХ ВЫБРОСАМИ АЛЮМИНИЕВЫХ ЗАВОДОВ.....	323
Каплина Н.Ф. МОРФОСТРУКТУРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ УСТОЙЧИВОСТИ НАСАЖДЕНИЙ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО В РАЗЛИЧНЫХ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ .....	326
Каплина Н.Ф., Селочник Н.Н. УСТОЙЧИВОСТЬ ДРЕВОСТОЕВ ДУБА В ТРЕХ КОНТРАСТНЫХ БИОТОПАХ ЮГО-ВОСТОЧНОЙ ЛЕСОСТЕПИ .....	329
Касьянова Л.Н. ТРАНСФОРМАЦИЯ СОСТАВА И СТРУКТУРЫ ФИТОЦЕНОЗОВ ПЕСЧАНЫХ ЭКОСИСТЕМ НА ПОБЕРЕЖЬЕ БАЙКАЛА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВЕДУЩИХ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ .....	332
Кислицина М.Н., Борисова Г.Г. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ <i>ELODEA DENSA</i> PLANCH. ....	335
Молчанов А.Г., Молчанова Т.Г. ЗАВИСИМОСТЬ ГАЗООБМЕНА СФАГНУМА ОТ УРОВНЯ ГРУНТОВЫХ ВОД.....	337
Морозова Т.И. ОРГАНИЗМЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ БОЛЕЗНИ ХВОЙНЫХ ПОРОД В БАЙКАЛЬСКОЙ СИБИРИ.....	340
Новикова Л.Ю. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КЛИМАТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ВЕГЕТАЦИИ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ КЛИМАТА.....	342
Ольчев А.В. ИЗМЕНЕНИЕ НЕТТО СО <sub>2</sub> ОБМЕНА И ЭВАПОТРАНСПИРАЦИИ ТАЕЖНЫХ ЛЕСОВ ЕВРОПЕЙСКОЙ ТЕРРИТОРИИ РОССИИ ПРИ КЛИМАТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЯХ .....	345
Парамонова Н.В. АККУМУЛЯЦИЯ ФЕРРИТИНА И ФИТОСИДЕРИНА В КЛЕТКАХ ЛИСТА <i>MESEMBRYANTHEMUM CRYSTALLINUM</i> ПРИ ВЫСОКОМ СОДЕРЖАНИИ ЖЕЛЕЗА И ЗАСОЛЕНИИ .....	348
Парамонова Н.В. ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ФЕРРИТИНА В	

СОПРОВОЖДАЮЩИХ КЛЕТКАХ ФЛОЭМЫ ЛИСТА <i>MESEMBRYANTHEMUM CRYSTALLINUM</i> .....	351
Пермитина В.Н. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА ЗАЛЕЖНЫХ ЗЕМЕЛЬ СТЕПНОЙ ЗОНЫ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАЗАХСТАНА .....	354
Позолотина В.Н., Антонова Е.В., Каримуллина Э.М. ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ У РАСТЕНИЙ В ЗОНЕ ВОСТОЧНО- УРАЛЬСКОГО РАДИОАКТИВНОГО СЛЕДА .....	357
Романов Р.Е., Смоляков Б.С. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ФИТОПЛАНКТОНА ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПРЕСНОГО ВОДОЕМА СОЛЯМИ МЕТАЛЛОВ .....	360
Рупышев Ю.А., Суткин А.В., Бойков Т.Г., Швецова Н.Е. СТРУКТУРНО- ДИНАМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ПАСТБИЩ В УСЛОВИЯХ СЕВЕРНОГО ПРИБАЙКАЛЯ .....	363
Суворова Г.Г., Дымова О.В., Оскорбина М.В., Янькова Л.С., Копытова Л.Д., Путилина Т.Е., Головкин Т.К. АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ХВОЙНЫХ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В ПРИРОДНЫХ УСЛОВИЯХ СЕВЕРНОЙ ЕВРАЗИИ .....	365
Суворова Г.Г., Тужилкина В.В., Оскорбина М.В., Попова Е.В., Копытова Л.Д., Янькова Л.С., Филиппова А.К. ОСОБЕННОСТИ СТОКА УГЛЕРОДА В ЕЛОВЫЕ ДРЕВОСТОИ ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРО-ВОСТОКА И ЮГА ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ .....	368
Урусов В.М., Варченко Л.И. О СИСТЕМЕ ТИП РАСТИТЕЛЬНОСТИ – ТИП РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ (СТРУКТУРА И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ) .....	371
Урусов В.М., Варченко Л.И. СОСУДИСТЫЕ РАСТЕНИЯ: К ЭВОЛЮЦИИ В ЗОНАХ КОНТАКТА ГЛОБАЛЬНОГО УРОВНЯ .....	375
Ухов Н.В., Кузнецова Е.Ф. ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ ОСНОВНЫХ ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД В РЕЧНЫХ ДОЛИНАХ БАССЕЙНА ВЕРХОВИЙ РЕКИ КОЛЫМЫ .....	378
<b>СЕКЦИЯ 3. ИНДИКАЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ОТРАЖАЮЩИЕ УРОВЕНЬ УСТОЙЧИВОСТИ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ .....</b>	<b>381</b>
Анищенко Л.Н. ПОКАЗАТЕЛИ БРИОФЛОРЫ – БИОИНДИКАЦИОННЫЕ ПРИЗНАКИ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ ЗОНЫ ХВОЙНО- ШИРОКОЛИСТВЕННЫХ ЛЕСОВ .....	381
Антонов И.А., Федоров Р.К., Гаченко А.С., Агафонова Т.А. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕОИНФОРМАЦИОННОЙ БАЗЫ ДАННЫХ ПО ХВОЕГРЫЗУЩИМ НАСЕКОМЫМ ДЛЯ АНАЛИЗА УСТОЙЧИВОСТИ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ БАЙКАЛЬСКОЙ СИБИРИ .....	384
Антонов И.А. ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РЫЖИХ ЛЕСНЫХ МУРАВЬЕВ И УСТОЙЧИВОСТЬ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ В	

УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ НА ТЕРРИТОРИИ БАЙКАЛЬСКОГО РЕГИОНА .....	386
Антонова Г.Ф., Вараксина Т.В., Железниченко Т.В., Стасова В.В., Чаплыгина И.А. МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ РАННЕЙ И ПОЗДНЕЙ КСИЛЕМЫ ГОДИЧНОГО ПРИРОСТА ХВОЙНЫХ КАК ПРИСПОСОБИТЕЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ НА ВОДНЫЙ СТРЕСС .....	389
Бажина Е.В. ТРЕНДЫ СОДЕРЖАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В ХВОЕ ПИХТЫ СИБИРСКОЙ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ НАРУШЕНИЯ ГОМЕОСТАЗА.....	391
Белоголова Г.А., Соколова М.Г., Гордеева О.Н. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ НА БИОГЕОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ «ПОЧВА – РАСТЕНИЕ» В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕНЕЗА .....	394
Гордеева О.Н., Белоголова Г.А. БИОГЕОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ В ПРИРОДНЫХ И ТЕХНОГЕННЫХ ЛАНДШАФТАХ ПРИАНГАРЬЯ .....	398
Горностай Т.Г., Полякова М.С., Осипенко С.Н., Пензина Т.А., Боровский Г.Б. СКОРОСТЬ РОСТА НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ТРУТОВЫХ ГРИБОВ ПРИ РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ .....	401
Иванова К.Г., Соколова А.В. ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ И СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ПАРКОВ Г. ИРКУТСКА.....	404
Михайлова Т.А. ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ТЕХНОГЕННОЙ ДИГРЕССИИ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ БАЙКАЛЬСКОГО РЕГИОНА .....	407
Мучник Е.Э., Кулакова Н.Ю. БИОРАЗНООБРАЗИЕ ЛИШАЙНИКОВ КАК ИНДИКАЦИОННЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ СОСТОЯНИЯ НЕКОТОРЫХ УЧАСТКОВ ДУБРАВ В МОСКВЕ .....	410
Огородников Е.М. АНАЛИЗ ХАРАКТЕРИСТИК ДРЕВОСТОЕВ, ПРОЙДЕННЫХ ВЫБОРОЧНЫМИ РУБКАМИ, УКАЗЫВАЮЩИХ НА ИХ УСТОЙЧИВОСТЬ ПРИРОДНЫМ НАРУШЕНИЯМ.....	413
Романова Е.В. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛИШАЙНИКОВ В ГОРОДАХ ЮГО-ВОСТОКА ЗАПАДНОЙ СИБИРИ	416
Романова И.М., Путилина Т.Е., Живетьев М.А., Граскова И.А. ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИДАЗЫ ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В ЛЕСАХ ПРЕДБАЙКАЛЬЯ .....	419
Скрипальщикова Л.Н., Стасова В.В. БИОИНДИКАЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ОЦЕНКЕ УСТОЙЧИВОСТИ НАРУШЕННЫХ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ .....	422
Соколова А.В., Морозова Т.И., Пензина Т.А. ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ И ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ВИДОВ АРБОРИФЛОРЫ ИСТОРИЧЕСКИХ ПАРКОВ ИРКУТСКА .....	424
Столбикова А.В., Рудиковский А.В., Дударева Л.В. ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ЯБЛОНИ СИБИРСКОЙ ( <i>MALLUS BACCATA</i> (L) BORK.) В ЗОНЕ КОНТАКТА	

ЛЕСА И СТЕПИ В СЕЛЕНГИНСКОЙ ДАУРИИ .....	426
Тараненко Е.Н., Михайлова Т.А., Горшков А.Г. ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ ДЛЯ РАСТЕНИЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ .....	429
Фуряев И.В., Самсоненко С.Д., Фуряев В.В. ФИТОИНДИКАЦИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО РЕЖИМА ЭКОТОПА СОСНЯКОВ РАЗНОТРАВНЫХ ВЕРХНЕ-ОБСКОГО МАССИВА .....	432
Харпухаева Т.М. СУКЦЕССИОННЫЕ СТАДИИ ЭПИКСИЛЬНЫХ ЛИШАЙНИКОВ В ЛЕСНЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ РЕСПУБЛИКИ БУРЯТИЯ .....	436
Шаманова С.И. ДЕНДРОФЛОРИСТИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ ВЫСОТНОЙ ПОЯСНОСТИ ЛАНДШАФТОВ ЗАПАДНОГО ПРИБАЙКАЛЬЯ.....	438
Шергина О.В. ИНДИКАЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ОТРАЖАЮЩИЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧВ И РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ .....	440
<b>СЕКЦИЯ 4. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ И ФИТОЦЕНОЗОВ .....</b>	<b>444</b>
Агаджанян Э.А., Авалян Р.Э., Атоянц А.Л., Саакян Л.С., Сагателян А.К., Арутюнян Р.М. ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ДДТ ПРИ ПОЧВЕННОМ МОНИТОРИНГЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ МОДЕЛЬНОГО ТЕСТ-ОБЪЕКТА .....	444
Богатырев В.А., Голубев А.А., Прилепский А.Ю., Букина О.Г., Соколова М.К., Дыкман Л.А. ВЫЯВЛЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ НАНОЧАСТИЦ КОЛЛОИДНОГО ЗОЛОТА В КЛЕТКАХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ВЫСШИХ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ .....	446
Богатырев В.А., Голубев А.А., Прилепский А.Ю., Букина О.Г., Дыкман Л.А. КОЛОРИМЕТРИЧЕСКАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ РОДА <i>DUNALIELLA</i> ТЕОД. ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТОКСИКАНТОВ НАНОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА .....	449
Болондинский В.К., Яковлев В.В. ИЗМЕРЕНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИ АКТИВНОЙ РАДИАЦИИ В ЛЕСНОМ ЦЕНОЗЕ .....	452
Димеева Л.А., Султанова Б.М., Пермитина В.Н., Усен К., Садвокасов Р.Е. КАРТОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД ОТРАЖЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТИТЕЛЬНОСТИ К ТЕХНОГЕННЫМ ФАКТОРАМ НА НЕФТЕГАЗОВЫХ МЕСТОРОЖДЕНИЯХ КЫЗЫЛОРДИНСКОЙ ОБЛАСТИ.....	455
Козеко Л.Е., Кордюм Е.Л. БЕЛОК ТЕПЛОВОГО ШОКА HSP70 КАК ИНДИКАТОР СОСТОЯНИЯ И РЕЗИСТЕНТНОСТИ РАСТЕНИЙ .....	458
Круглова Н.Н. ОЦЕНКА ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ЗАРОДЫШЕЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В СЕЛЕКТИВНЫХ УСЛОВИЯХ	

ЭМБРИОКУЛЬТУРЫ <i>IN VITRO</i> .....	461
Кулешова Ю.М., Гринева И.А., Феклистова И.А. СПОСОБ ФОРМИРОВАНИЯ СИСТЕМНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К АЛЬТЕРНАРИОЗУ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР ВНЕКЛЕТОЧНЫМИ МЕТАБОЛИТАМИ БАКТЕРИЙ <i>PSEUDOMONAS</i> .....	463
Ли Т.Е., Дидоренко С.В., Байкара Б.Т., Оразбаева У.М., Омарова А.Ш., Спанкулова З.Б. РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ СЕЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ, КУКУРУЗЫ И СОИ .....	466
Мустьяцэ Г.И., Рошка Н.Д., Баранова Н.В., Ганя А.И. УПРОЩЕННЫЙ СПОСОБ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ВЫРОЖДАЮЩЕЙСЯ МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ ( <i>MENTHA PIPERITA</i> L.) .....	469
Нурминский В.Н., Озолина Н.В., Нестеркина И.С., Пилипченко А.А., Ракевич А.Л., Лопатин А.П. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВАКУОЛЕЙ И ВАКУОЛЯРНЫХ МЕМБРАН ..	472
Полонский В.И., Полонская Д.Е. ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ ФИТОТОКСИЧНОСТИ ЗАГРЯЗНЕННОЙ НЕФТЬЮ ПОЧВЫ .....	475
Седловский А.И., Тюпина Л.Н., Кохметова А.М., Алшоразова И.П., Маденова А.К., Тэженова А.И. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ СОЗДАНИЯ СОЛЕУСТОЙЧИВЫХ ОБРАЗЦОВ ПШЕНИЦЫ .....	478
Соколова Л.Г., Симакова А.А., Зорина С.Ю., Помазкина Л.В. ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ФИТОТОКСИЧНОСТИ ПАХОТНЫХ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ФТОРИДАМИ АЛЮМИНИЕВОГО ПРОИЗВОДСТВА .....	481
Султанова Б.М. РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ РАСТЕНИЙ ТЕХНОГЕННЫХ ЯДЕРНЫХ ЭКОТОПОВ СЕМИПАЛАТИНСКОГО ИСПЫТАТЕЛЬНОГО ПОЛИГОНА .....	484



**Научное издание**

**Факторы устойчивости растений в экстремальных  
природных условиях и техногенной среде**

**Материалы Всероссийской научной конференции  
Иркутск 10-13 июня 2013 г.**

Оригинал-макет Антонов И.А.  
Обложка Антонов И.А., Константинова Е.Ю.

Подписано в печать: 06.05.2013 г.  
Формат 60 x 90 1/8. Бумага офсетная.  
Печать трафаретная. Гарнитура Times New Roman.  
Усл. печ. л. 58,7. Тираж 300 экз. Зак. 831п

Отпечатано: Федеральное государственное унитарное  
геологическое предприятие «Урангеологоразведка».  
Юридический адрес: 115148, г. Москва, ул. Б. Ордынка, дом 49, стр. 3.  
ИНН 7706042118  
Справки и информация: БФ «Сосновгеология» «Глазковская типография».  
Адрес: 664039, г. Иркутск, ул. Гоголя, 53; тел.: 38-78-40, тел./факс: 598-498