

На основании полученных экспериментальных данных был разработан оригинальный метод биологической дозиметрии, позволяющий ретроспективно определять поглощенные дозы в лесных биогеоценозах с достаточно высокой степенью достоверности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Козлов В.А., Козубов Г.М., Таскаев А.И. Радиационное воздействие на хвойные леса в районе аварии на Чернобыльской АЭС. Коми научный центр УрО АН СССР. 1990. 136 с.
2. Тихомиров Ф.А., Щеглов А.И. Последствия радиоактивного загрязнения лесов в зоне влияния аварии на ЧАЭС // Радиационная биология. Радиоэкология, 1997. Т.37. Вып. 4. С. 664–672
3. Ваганов Ю.А., Шиятов С.Г., Мазена В.С. Дендроклиматические исследования в Урало-Сибирской Субарктике. Наука, Новосибирск. 1996. 246 с.
4. Козубов Г.М., Таскаев А.И. Радиобиологические исследования хвойных в районе Чернобыльской катастрофы. М.: ИПЦ «Дизайн. Информация. Картография», 2002. 272 с.
5. Козлов В.А., Филиппов М.М. Радиоизотопные методы контроля качества. "Наука-производству". Петрозаводск. 1985.- 42 с.
6. Козубов Г.М., Козлов В.А. Радиобиологические исследования лесов в зоне аварии на ЧАЭС // Чернобыль-96. "Итоги 10 лет работы по ликвидации последствий аварии на ЧАЭС". Зеленый Мыс, 1996. С. 233.
7. Метаболизм сосны в связи с интенсивностью роста. Ин-т леса, Петрозаводск, 1991, 162 с.
8. Козубов Г.М., Козлов В.А., Патов А.И. Способ биологической дозиметрии. Описание изобретения к патенту № 1804631. Бюлл. № 11. 1993.

PLANT COLD TOLERANCE OF AND BIOELECTROGENESIS

Krasavina M.S., Prudnikov G.A.

Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Botanicheskaya St. 35, Moscow, E-mail: krasavina@ippras.ru

Abstract. The brief review of possible involvement of the bioelectric responses in the development of plant tolerance to low temperatures.

ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ И БИОЭЛЕКТРОГЕНЕЗ

Красавина М.С., Прудников Г.А.

Институт физиологии растений РАН, Москва, 127276, Ботаническая ул. 35. E-mail: krasavina@ippras.ru

Для средней полосы России проблема устойчивости растений к низким температурам особенно актуальна. Низкие температуры в зимнее время ограничивают произрастание неустойчивых к холоду растений и нередко приводят к гибели посевов. Воздействие низких температур нарушает многие метаболические процессы в клетках [20]. Изменение функционирования электрон-транспортных дыхательных и фотосинтетических цепей может приводить к нарушению энергетического баланса. Нарушение стабильности ДНК и РНК влияет на процессы транскрипции и трансляции. Кроме того, активируется ряд индуцированных холодом генов, которые кодируют белки переноса липидов, факторы элонгации и трансляции. Охлаждение до низких положительных температур может вызывать обезвоживание тканей через изменение активности аквапоринов в мембранах клеток корня, что приводит к торможению поглощения воды и ее транспорта по растению [19].

Для снижения ингибирующего действия низкотемпературного стресса необходимы быстрое оповещение клеток организма о наступлении стрессовых условий и адаптация к ним, т. е. требуются система восприятия, трансдукции сигнала и его преобразование в ответную реакцию. До сих пор неясно, как клетки воспринимают изменения температуры и трансформируют холодный сигнал в последующий физиологический ответ [2]. Однако, очевидно, что основная роль в восприятии холодного стресса и последующей передаче сигнала принадлежит плазматической мембране. Снижение температуры влияет на липидный матрикс мембраны, изменяя ее физико-химические свойства и проницаемость [13]. Под действием низких температур происходит увеличение содержания насыщенных жирных кислот в составе липидов мембраны. В результате этого липидный слой мембраны уплотняется.

ется, затрудняя функционирование мембранных и связанных с мембраной белков. При отсутствии восстановления текучести мембран происходит фазовый переход из жидкокристаллической фазы в фазу геля, что вызывает практически полное прекращение функционирования растительного организма. Липиды мембран могут быть первой мишенью для действия низких температур. Даже такой отдаленный ответ как экспрессия активируемых холодом генов коррелирует с состоянием мембран – повышение текучести мембран предотвращало активацию этих генов на холоде (см. [19]).

Изменяя текучесть и проводимость мембраны, низкие температуры действуют на активность трансмембранных ионных потоков [8, 9]. Активируются ионные потоки и трансмембранные токи. Главным ионом, поступление которого в клетку активируется практически при всех неблагоприятных условиях, является кальций [1]. Повышение концентрации кальция в цитоплазме – одна из самых первых реакций на охлаждение [8, 9, 20]. Основное количество аккумулирующегося в цитоплазме кальция входит в клетку через плазматическую мембрану. Вход кальция регулируется реорганизацией связанного с мембраной цитоскелета, вызванной повышением жесткости мембраны (см. [19]). Через изменение концентрации кальция низкотемпературный сигнал может передаваться на внутриклеточные сенсоры – кальмодулин, протеинкиназы (CDPK), каскад MAPK. В результате активируется экспрессия факторов транскрипции для целого ряда генов, в том числе определяющих холодоустойчивость растения [8].

Предполагается, что ионные каналы могут выступать в качестве сенсоров изменения температуры, сигнализируя о температурном стрессе изменением проводимости для различных ионов. При охлаждении происходит увеличение проводимости ионных каналов мембран, при возвращении температуры на исходный уровень проводимость мембран восстанавливается.

Среди активируемых холодом каналов важное место принадлежит кальциевым каналам. Было показано, что в плазматической мембране высших растений существует ряд механочувствительных кальций-селективных ионных каналов. Предполагают, что эти каналы могут участвовать в восприятии низкотемпературного стимула [3]. Повышение жесткости липидного матрикса и натяжение мембраны при охлаждении могут оказывать механическое давление на такие каналы, активируя их. Комплекс механочувствительных ионных каналов участвует в индуцированной охлаждением деполяризации плазматической мембраны [8, 9]. Подтверждением этому может служить действие гадолиния, блокатора активируемых деполяризацией механочувствительных кальциевых каналов, на потоки кальция и вызванную низкой температурой деполяризацию [12].

Скорость поступления Ca^{2+} в цитоплазму и вызываемая кальцием деполяризация зависят от скорости изменения температуры и практически не зависят от абсолютной температуры [16]. Чем выше скорость изменения температуры, тем быстрее происходит увеличение содержания Ca^{2+} в цитоплазме [1].

Кроме изменения проводимости трансмембранных каналов плазмалеммы, на увеличение концентрации внутриклеточного кальция под воздействием холода влияет его освобождение из внутренних источников [8, 9]. Наиболее вероятным внутриклеточным депо является вакуоль. Предполагают, что на первом этапе происходит резкое увеличение проводимости клеточной мембраны, и за счет этого Ca^{2+} через ионные каналы поступает в цитоплазму. На втором этапе Ca^{2+} поступает из вакуоли, еще более деполяризуя мембрану. Существует несколько предположений о механизмах, активирующих выход Ca^{2+} из вакуоли: 1) прямое действие холода на кальциевые каналы, 2) опосредованная внутриклеточным Ca^{2+} активация медленных Ca^{2+} -каналов на вакуолярной мембране, 3) действие Ca^{2+} на инозитилфосфатный механизм [8].

White [22] рассматривает модель существования на плазматической мембране двух типов Ca^{2+} -каналов – потенциал-зависимых и потенциал-независимых. Последние функционируют преимущественно в условиях steady state, поддерживая в кооперации с выкачивающей кальций Са-АТФазой кальциевый гомеостаз в клетке. Индуцируемое быстрым охлаждением временное открывание активируемых деполяризацией ДАСС-каналов приводит к входу Ca^{2+} и деполяризации мембраны, что вызовет потенциал-зависимую активацию других каналов, в том числе хлорных. Выход ионов Cl^- из клетки вызовет дальнейшее снижение величины мембранного потенциала [21]. Можно предположить участие в стадии деполяризации как анионных каналов R-типа, зависимых от мембранного потенциала, так и медленных анионных каналов, активируемых

входом в цитоплазму Ca^{2+} . Изменение температуры оказывает влияние и на калиевые каналы. Резкое снижение температуры приводит к ингибированию потока K^+ через два типа калиевых каналов – активируемых гиперполяризацией каналов входа K^+ и активируемых деполяризацией каналов выхода K^+ [5].

Таким образом, при снижении температуры происходит изменение проводимости ионных каналов плазматической мембраны. Основным ионом, инициирующим деполяризацию, является Ca^{2+} . Вход Ca^{2+} в клетку может вызывать активацию и анионных каналов, и опосредованно K^+ -каналов.

Индуктируемые низкими температурами потоки ионов через мембрану неизбежно отразятся на генерируемых клетками электрических потенциалах. На фоне деполяризации плазматической мембраны [8, 16] часто наблюдаются быстрые импульсные изменения мембранного потенциала. Вызванная охлаждением тканей импульсная электрическая активность различается по форме импульсов, условиям генерации и способности к распространению от места охлаждения. Например, в возбудимых тканях стебля растений или таллома печеночных мхов непосредственно при резком охлаждении может генерироваться потенциал действия (ПД) [10, 23, 24], основными свойствами которого являются подчинение закону «все или ничего» и распространение к отдаленным участкам при сохранении своих характеристик. В ряде случаев отмечали развитие так называемых СІРС (cold induced potential changes), которые регистрируются только в месте воздействия холода [11]. Частным случаем таких реакций является генерация не распространяющихся вариационного потенциала (VP) и «измененного потенциала» (VT). Последний генерируется в присутствии ингибиторов анионных и калиевых потоков, поэтому рассматривается авторами как ранняя фаза ПД, в которой проявляются только начальные потоки кальция. Трудно достоверно различить эти формы импульсной активности, поскольку редко они тестируются в работах по всем признакам, характеризующим ПД. Поэтому регистрируемую нами реакцию тканей листа на охлаждение назвали «местной реакцией», подчеркивая лишь ее неспособность распространяться (рис. 1).

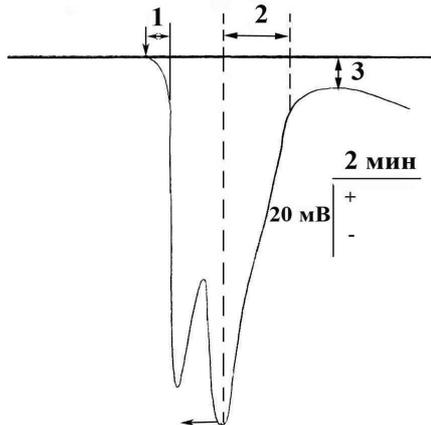


Рисунок 1. Импульсная активность, измеренная экстраклеточными электродами в листе проростков огурца в месте охлаждения до 8–9°C.

Стрелка, направленная вниз, – начало охлаждения, направленная в сторону – прекращение.

Несмотря на вариабельность формы и характеристик импульсной электрической активности, в ее основе лежат изменения одних и тех же ионных потоков. Начальная деполяризация инициируется аккумуляцией в клетках ионов кальция, основное снижение величины мембранного потенциала (МП) обусловлено выходом из клеток ионов хлора, а стадия последующей реполяризации – выходом ионов калия. В результате мембранный потенциал практически возвращается на исходный уровень [26].

Опритов В.А. и его сотрудники [23–25] подробно рассмотрели этапы развития электрогенеза в гипокотильях проростков тыквы при снижении температуры. Они выделили 3 стадии реакции, которые соответствовали, по их мнению, стадиям универсального адаптационного синдрома Селье. Первая стадия – деполяризация – соответствовала стадии «тревоги», «убегания» от действия стрессорного фактора. На этой стадии ингибируется метаболическая составляющая МП. Возможно, что при более низкой величине МП заторможены и многие другие мембранные процессы, требующие

затраты метаболической энергии. Тем не менее, в это время происходит подготовка к следующему этапу адаптации – на фоне сохранения низкой температуры наблюдается значительная реполяризация, хотя исходного уровня МП не достигает. По-видимому, при реполяризации происходит восстановление многих мембранных процессов – активного транспорта ионов и метаболитов, активности локализованных в мембранах ферментов и др. Новый уровень МП может сохраняться длительное время (часы). Но если температура продолжает падать, наступает фаза «истощения» – МП резко снижается и клетка гибнет (рис. 2).

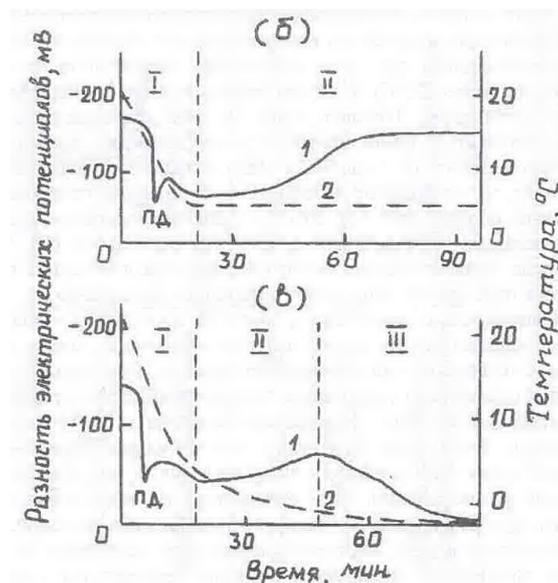


Рисунок 2. Стадии биоэлектрической реакции стебля тыквы на охлаждение.

Пунктирная линия – изменение температуры, сплошная – электрического потенциала. Вверху – после охлаждения температура поддерживалась на уровне 6°C, внизу – продолжала снижаться (Оприлов[23]).

Ингибиторный анализ позволил заключить, что основной причиной изменения МП при действии холода служит изменение активности протонного насоса. По мнению авторов, стадия «ухода» сопряжена с торможением H^+ -АТФазы, определяющей в норме значительную долю величины МП, в результате снижения текучести плазматической мембраны, а стадия реполяризации – с активацией фермента.

Начальная, резкая деполяризация сопровождается генерацией одного или нескольких импульсов. Поскольку авторы регистрировали импульсную активность не только в месте раздражения, но и на расстоянии от него, такие импульсы приняли за распространяющиеся потенциалы действия (ПД). Авторы подчеркивают, что генерация ПД чрезвычайно важна в развитии адаптации к низким температурам – если ПД не генерируются, стадия адаптивной реполяризации не наступает. Предположили, что именно во время ПД происходят процессы, необходимые для реполяризации, и одним из них может быть выход из клетки ионов калия во время генерации ПД и активация ими H^+ -АТФазы на плазматической мембране. Прохождение ПД не только создает условия для протекания адапционной реполяризации, но и повышает устойчивость к повторному охлаждению и даже к кратковременному промораживанию тканей при $-2^{\circ}C$. При последующих снижениях температуры амплитуда изменений МП значительно снижается [27, 28]. Интересно, что в трансгенных растениях, конститутивно экспрессирующих гены СВФ-пути, наблюдали конститутивную экспрессию СВФ-регулона и устойчивость к замерзанию даже без предварительной адаптации при низких положительных температурах [20].

Наличие связи между характеристиками биоэлектрической реакции растений на охлаждение и устойчивостью подтверждается при сравнении ответной реакции двух гибридов огурца – более холодочувствительного гибрида Мазай и менее чувствительного Емеля (рис. 3). У гибрида «Мазай» амплитуда БЭР была значительно больше, чем у гибрида «Емеля». Отличалась также скорость деполяризации: у гибрида «Мазай» она была выше. Таким образом, можно говорить о наличии различий в параметрах БЭР между гибридами огурца, различающимися по чувствительности к охлаждению. Согласно работам других авторов, это предполагает возможность использования биоэлектрической реакции в качестве теста на холодоустойчивость растений [29, 30].

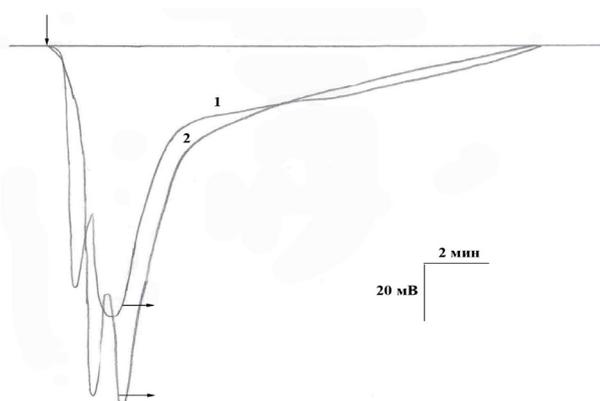


Рисунок 3. Реакция на охлаждение участка листа огурцов гибрида Емеля (1) и Мазай (2).

Сравнение реакции на снижение температуры видов растений, различающихся по устойчивости, также обнаружило отличия. Несмотря на то, что непосредственно при снижении температуры и холодоустойчивые растения арабидопсиса, и чувствительные к холоду растения табака обнаруживали одинаковое повышение цитоплазматической концентрации кальция, повторное воздействие холода выявило различия [8].

Повторное охлаждение через 3 мин. после первого вызывало в обоих растениях меньшее по амплитуде повышение цитоплазматической концентрации кальция. В клетках табака после охлаждения через 30 мин. наблюдалась такая же импульсная аккумуляция Ca^{2+} , как и при первом воздействии. Но холодоустойчивые растения арабидопсиса обнаружили явление «памяти о предыдущем охлаждении» – амплитуда изменения концентрации Ca^{2+} в клетках сохранялась сниженной. Следовательно, чувствительный к холоду табак был менее способен удерживать информацию.

Таким образом, изменение ионных потоков, формирующих биоэлектрическую реакцию на действие низких положительных температур, является наиболее ранним ответом, предшествующим адаптационным процессам и, возможно, являющимся пусковым механизмом для них.

ЛИТЕРАТУРА

1. Carpaneto A., Ivashikina N., Levchenko V., Krol E., Jeworutzki E., Zhu J.-K., Hedrich R. Cold transiently activates calcium-permeable channels in *Arabidopsis* mesophyll cells // *Plant Physiol.* 2007. Vol. 143. P. 487–494.
2. Clapham D.E. TRP channels as cellular sensors // *Nature.* 2003. Vol. 426. P. 517–24.
3. Ding J.P., Pickard B.G. Modulation of mechanosensitive calcium-selective cation channels by temperature // *Plant J.* 1993. Vol. 3. P. 713–720.
4. Guy C.L. Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1990. Vol. 41. P. 187–223.
5. Ilan N., Moran N., Schwartz A. The role of potassium channels in the temperature control of stomatal aperture // *Plant Physiol.* 1995. Vol. 108. P. 1161–1170.
6. Ito Y., Katsura K., Maruyama K., Taji T., Kobayashi M., Seki M., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Functional analysis of rice DREB1/CBF-type transcription factors involved in cold-responsive gene expression in transgenic rice // *Plant Cell Physiol.* 2006. Vol. 47. P. 141–153.
7. Jennings P., Saltvelt M.E. Temperature and chemical shocks induce chilling tolerance in germinating *Cucumis sativus* (cv. Poinsett 76) seeds // *Physiol. Plant.* 1994. Vol. 91. P. 703–707.
8. Knight H., Trewavas A.J., Knight M.R. Cold calcium signaling in *Arabidopsis* involves two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation // *Plant Cell.* 1996. Vol. 8. P. 489–503.
9. Knight M.R. Signal transduction leading to low-temperature tolerance in *Arabidopsis thaliana* // *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* B 2002. Vol. 357. P. 871–875.
10. Krol E., Dziubinska H., Trebacz K. Low-temperature induced transmembrane potential changes in the liverwort *Conocephalum conicum* // *Plant Cell Physiol.* 2003. Vol. 44. P. 527–533
11. Krol E., Dziubinska H., Trebacz K. Low-temperature-induced transmembrane potential changes in mesophyll cells of *Arabidopsis thaliana*, *Helianthus annuus* and *Vicia faba* // *Physiol. Plant.* 2004. Vol. 120. P. 265–270.
12. Krol E., Trebacz K. Calcium-dependent voltage transients evoked by illumination in the liverwort *Conocephalum conicum* // *Plant Cell Physiol.* 1999. Vol. 40. P. 17–24.

13. *Minorsky P.V., Spanswick R.M.* Electrophysiological evidence for a role for calcium in temperature sensing by roots of cucumber seedlings // *Plant Cell Environ.* 1989. Vol. 12. P. 137–143.
14. *Murata N., Los D.A.* Membrane fluidity and temperature perception // *Plant Physiol.* 1997. Vol. 115. P. 875–879.
15. *Penfield S.* Temperature perception and signal transduction in plants // *New Phytol.* 2008. Vol. 179. P. 615–628.
16. *Plieth C., Hansen U.P., Knight H., Knight M.R.* Temperature sensing by plants: the primary characteristics of signal perception and calcium response // *Plant J.* 1999. Vol. 18. P. 491–497.
17. *Provart N.J., Gil P., Chen W., Han B., Chang H.-S., Wang X., Zhu T.* Gene expression phenotypes of *Arabidopsis* associated with sensitivity to low temperatures // *Plant Physiol.* 2003. Vol. 132. P. 893–906.
18. *Pyatygin S.S., Opritov V.A., Khudyakhov V.A.* Subthreshold changes in excitable membranes of *Cucurbita pepo* L. stem cells during cooling-induced action potential generation // *Planta.* 1992. Vol. 186. P. 161–165.
19. *Smallwood M., Bowles D.J.* Plants in a cold climate // *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 2002. Vol. 357. P. 831–847.
20. *Thomashow M.F.* So what's new in the field of plant cold acclimation? Lots! // *Plant Physiol.* 2001. Vol. 125. P. 89–93.
21. *Trebacz K., Tarnecki R., Zawadzki T.* The effect of ion channel inhibitors and factors modifying metabolism on the excitability of the liverwort *Conocephalum conicum* // *Physiol. Plant.* 1989. Vol. 75. P. 24–30.
22. *White P.J.* Depolarization-activated calcium channels shape the calcium signatures induced by low-temperature stress // *New Phytol.* 2009. Vol. 183. P. 6–8.
23. *Опритов В.А.* Функциональные аспекты биоэлектrogenеза у высших растений. LIX Тимирязевское чтение. Н.Новгород: Изд-во Нижегородского университета. 1998. 45с.
24. *Опритов В.А., Пятыгин С.С., Ретивин В.Г.* Биоэлектrogenез у высших растений. М.: Наука. 1991. 216 с.
25. *Опритов В.А., Пятыгин С.С., Худяков В.А.* О роли структурных перестроек липидов возбудимых мембран в генерации потенциалов действия высшими растениями при умеренном охлаждении // *Биофизика.* 1984. Т. 29. С. 415–418.
26. *Прудников Г.А., Паничкин Л.А., Красавина М.С.* Влияние блокаторов ионных каналов и H^+ -АТФазы на генерацию местной электрической реакции в листе огурца // *Физиология растений.* 2010. Т. 57. С.925–934.
27. *Ретивин В.Г., Опритов В.А., Федулina С.Б.* Преадаптация тканей стебля *Cucurbita pepo* L. к повреждающему действию низких температур, индуцированная потенциалом действия // *Физиология растений.* 1997. Т. 44. С. 499–510.
28. *Ретивин В.Г., Опритов В.А.* К оценке холодоустойчивости высших растений на основе электрофизиологического анализа их возбудимости // *Физиология растений.* 1992. Т. 39. С. 1224–1231.
29. *Черницкий М.Ю., Паничкин Л.А.* Диагностика холодоустойчивости огурца по биоэлектрическим потенциалам. 1. Разработка диагностического показателя // *Физиология растений.* 1994. Т. 41. С. 386–389.
30. *Черницкий М.Ю., Паничкин Л.А.* Диагностика холодоустойчивости огурца по биоэлектрическим потенциалам. 2. Оценка сортовых различий // *Физиология растений.* 199. 1994. Т. 41. С. 390–394.

STATUS OF EXPERIMENTAL PULPWOOD PLANTATION OF NORWAY SPRUCE IN KARELIA

Laur N.V.

Petrozavodsk State University, E-mail: laur@psu.karelia.ru

Abstract. The history and methodology of organization plantation of pulpwood *Norway spruce* in Pudozh region of Karelia are discussed.

СОСТОЯНИЕ ОПЫТНОЙ БАЛАНСОВОЙ ПЛАНТАЦИИ ЕЛИ ЕВРОПЕЙСКОЙ В КАРЕЛИИ

Лаур Н.В.

Петрозаводский государственный университет, E-mail: laur@psu.karelia.ru

Одной из основных задач, стоящих перед лесным хозяйством России, является повышение продуктивности существующих и вновь создаваемых лесов и обеспечение лесопильной и целлюлозно-бумажной промышленности страны сырьем. Одним из возможных решений этой задачи