

Труды

КАРЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

№ 3, 2009

transactions.krc.karelia.ru



ТРУДЫ КАРЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РАН. № 3, 2009. Серия ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

А. А. Еркеева, Е. С. Холопцева. ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОСТИ СРЕДЫ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (<i>PINUS SYLVESTRIS</i> L.) РАЗНОГО ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	46
Н. М. Казнина, А. Ф. Титов, Г. Ф. Лайдинен, Ю. В. Батова. ВЛИЯНИЕ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ РАСТЕНИЙ <i>PHLEUM PRATENSE</i> L.	50
О. Н. Лебедева, Т. С. Николаевская, А. Ф. Титов. ГРУЗ ПИГМЕНТНЫХ МУТАЦИЙ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ РАСТЕНИЙ В ПОТОМСТВАХ <i>FESTUCA PRATENSIS</i> HUDS., СФОРМИРОВАННЫХ НА МУТАНТНОЙ ОСНОВЕ	56
Е. Ф. Марковская, Е. Г. Шерудило, П. О. Рипатти, М. И. Сысоева. РОЛЬ ЛИПИДОВ В УСТОЙЧИВОСТИ СЕМЯДОЛЬНЫХ ЛИСТЬЕВ ОГУРЦА К ПОСТОЯННОМУ И КРАТКОВРЕМЕННОМУ ПЕРИОДИЧЕСКОМУ ДЕЙСТВИЮ НИЗКОЙ ЗАКАЛИВАЮЩЕЙ ТЕМПЕРАТУРЫ	67
Т. А. Сазонова, В. Б. Придача. ВЛИЯНИЕ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА МИНЕРАЛЬНЫЙ И ВОДНЫЙ РЕЖИМ СОСНЫ И ЕЛИ	75
Е. А. Спиридонова, М. И. Сысоева, Е. Г. Шерудило, Т. Г. Шibaева. РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА НА КРАТКОВРЕМЕННЫЕ И ДЛИТЕЛЬНЫЕ СНИЖЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ В УСЛОВИЯХ РАЗНЫХ ФОТОПЕРИОДОВ	86
А. Ф. Титов, Ю. В. Венжик, В. В. Таланова, С. А. Фролова, А. В. Таланов, Е. А. Назаркина. ХАРАКТЕР И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ИЗМЕНЕНИЙ В ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОМ АППАРАТЕ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ХОЛОДОВОГО ЗАКАЛИВАНИЯ	93
Хроника	
В. А. Илюха. IV Международный симпозиум «Современные проблемы и методы экологической физиологии и патологии млекопитающих, введенных в зоокультуру» (Петрозаводск, 23–25 сентября 2009 г.)	98
Юбилей и даты	
Н. Н. Немова, Е. М. Матвеева. Ольга Николаевна Лебедева (к 60-летию со дня рождения)	100
В. В. Таланова, А. М. Крышень. Александр Федорович Титов (к 60-летию со дня рождения)	103
Рецензии и библиография	110
Правила для авторов	112

Серия ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

СОДЕРЖАНИЕ

От редактора	3
Л. В. Аникиева, Н. Н. Тютюнник, В. С. Аниканова. РОЛЬ ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ ЕСТЕСТВЕННОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ ТОКСАСКАРИДОЗЕ ПЕСЦОВ	4
Е. В. Борвинская, Л. П. Смирнов, Н. Н. Немова. ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ РЫБ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ЭКОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ВОДНУЮ СРЕДУ (ОБЗОР)	8
А. Г. Борисова, Т. Н. Ильина, С. Н. Калинина, И. В. Баишникова, Л. Б. Узенбаева, В. А. Илюха. О НЕКОТОРЫХ ФАКТОРАХ, ВЛИЯЮЩИХ НА ВНУТРИ- И МЕЖВИДОВУЮ ГЕМОЛИТИЧЕСКУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ	20
А. С. Горюнов, А. Г. Борисова, С. П. Рожков, Г. А. Суханова, Н. Н. Рожкова. МОРФОЛОГИЯ И АГРЕГАЦИЯ ЭРИТРОЦИТОВ В НАНОДИСПЕРСИЯХ УГЛЕРОДА	30
М. В. Грицких, Т. С. Николаевская, Л. В. Топчиева, О. М. Федоренко. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЕВЕРНЫХ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> (L.) HEYNH.	38

Карельский научный центр
Российской академии наук

ТРУДЫ

КАРЕЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Серия ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

Петрозаводск
2009

**Труды Карельского научного центра
Российской академии наук**
№ 3, 2009. Серия ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

Главный редактор
А. Ф. Титов

Редакционный совет

В. Т. Вдовицын, Т. Вихавайнен, А. В. Воронин, С. П. Гриппа, Э. В. Ивантер, А. С. Исаев,
В. И. Крутов, А. М. Крышень (зам. главного редактора), В. В. Мазалов, Ф. П. Митрофанов,
И. И. Муллонен, Н. Н. Немова, В. В. Окрепилов, О. Н. Пугачев, Н. Н. Филатов, А. И. Шишкин,
В. В. Щипцов

Editor-in-Chief
A. F. Titov

Editorial Council

V. T. Vdovitsyn, T. Vihavainen, A. V. Voronin, S. P. Grippa, E. V. Ivanter, A. S. Isaev, V. I. Krutov,
A. M. Kryshen' (associate editor), V. V. Mazalov, F. P. Mitrofanov, I. I. Mullonen, N. N. Nemova, V. V. Okrepilov,
O. N. Pugachev, N. N. Filatov, A. I. Shishkin, V. V. Schiptsov

Редакционная коллегия серии «Экспериментальная биология»

А. С. Горюнов, В. А. Илюха (зам. отв. редактора), Н. М. Калинкина, О. Н. Лебедева, Е. М. Матвеева,
Н. Н. Немова (отв. редактор), Л. Л. Новицкая, Е. К. Олейник, Л. П. Смирнов, М. И. Сысоева (отв.
секретарь)

Editorial board of the «Experimental biology» series

A. S. Goryunov, V. A. Ilyukha (Deputy Editor-in-Charge), N. M. Kalinkina, O. N. Lebedeva, E. M. Matveeva,
N. N. Nemova (Editor-in-Charge), L. L. Novitskaya, E. K. Olejnik, L. P. Smirnov, M. I. Sysoeva (Executive
Secretary)

Издание осуществлено при финансовой поддержке Института биологии Карельского НЦ РАН

ISSN 1997-3217

Зав. редакцией Н. В. Михайлова
Адрес редакции: 185910 Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11
тел. (8-8142)780109; (8-8142)769600
E-mail: trudy@krc.karelia.ru
Электронная полнотекстовая версия: <http://transactions.krc.karelia.ru>

© Карельский научный центр РАН, 2009

ОТ РЕДАКТОРА

История издания «Труды Карельского научного центра РАН» ведется с 1947 г., когда вышел первый выпуск «Известий Карело-Финской научно-исследовательской базы Академии наук СССР». В 1954 г. они были переименованы в «Труды Карело-Финского филиала Академии наук СССР», затем в «Труды Карельского филиала АН СССР». Всего вышло 40 выпусков. В 1999 г. после длительного перерыва в Карельском научном центре РАН было решено возобновить издание «Трудов Карельского научного центра РАН». До 2008 г. были подготовлены 14 выпусков. В 2009 г. издание было переведено из формы продолжающегося научного издания в периодическое и утверждены редколлегии регулярных серий «Биогеография» и «Экспериментальная биология».

Представляем Вашему вниманию первый выпуск серии «Экспериментальная биология» периодического научного издания «Труды КарНЦ РАН» и приглашаем опубликовать статьи, отражающие результаты фундаментальных и прикладных исследований механизмов жизнедеятельности растений и животных. К публикации также принимаются описания оригинальных методов и приборов, открывающих новые возможности для получения и анализа экспериментальных результатов, сообщения о научных мероприятиях (симпозиумах, конференциях и др.), персоналии (юбилеи и даты, потери науки), статьи по истории науки. Представляемые работы должны содержать новые, ранее не публиковавшиеся данные. Все статьи, поступающие в редакцию, подлежат обязательному рецензированию. Комплектация выпусков серии происходит по мере поступления статей. Очередность публикации статей определяется регистрационной датой их поступления в редакцию.

*Ответственный редактор
чл.-корр. РАН, д. б. н. Н. Н. Немова*

Ознакомиться с требованиями к оформлению материалов можно на сайте издания:
<http://transactions.krc.karelia.ru>.

Адрес редакции:
185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская 11, редакция Трудов КарНЦ РАН,
серия «Экспериментальная биология». Электронный адрес: trudy@krc.karelia.ru.

УДК 581.9: 502.172: 502.11 (470.22)

РОЛЬ ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ ЕСТЕСТВЕННОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ ТОКСАСКАРИДОЗЕ ПЕСЦОВ

Л. В. Аникиева, Н. Н. Тютюнник, В. С. Аниканова

Институт биологии Карельского научного центра РАН

Изучены факторы естественной защиты организма – комплемента, лизоцима и бета-лизинов – при экспериментальном токскаридозе песцов. Щенки в возрасте трех месяцев были заражены градуально повышающимися дозами яиц нематоды *Toxascaris leonina* Leiper 1907: первой группе задано 10 яиц, второй – 100 яиц, третьей – 1000 яиц. Установлены различия в активности отдельных компонентов гуморальных факторов. Показано, что наибольшие колебания свойственны бета-лизины и комплементу. Выраженное воздействие на хозяина оказывают личиночные стадии *T. leonina* в период миграции и линьки.

Ключевые слова: гуморальные факторы (комплемент, лизоцим, бета-лизин), песцы, нематода *Toxascaris leonina*, доза заражения хозяина, стадия развития гельминта.

L. V. Anikieva, N. N. Tyutyunnik, V. S. Anikanova. NON-SPECIFIC FACTORS OF IMMUNITY IN ARCTIC FOXES (*ALOPEX LAGOPUS* L.) WITH TOXASCARIDOSIS

The effect of the host infestation doze of 10, 100 and 1000 eggs and developmental stages of the nematode *Toxascaris leonina* Leiper 1907 on non-specific factors of immunity in arctic fox was studied experimentally.

Key words: humoral factors (complement, lysozyme, beta-lysine), arctic foxes, nematode *Toxascaris leonina*, host infestation dose, helminth developmental stage.

В условиях интенсификации животноводства усиливается негативное влияние стресс-факторов различной природы, сопровождающееся заболеваниями животных и снижением их продуктивности. В защитных реакциях организма существенное значение имеют гуморальные факторы: лизоцим, бета-лизины, комплемент, которые наряду с пропердином и фагоцитозом относятся к неспецифическому звену иммунной системы организма.

Литературные данные, освещающие состояние гуморального звена иммунной системы при заболеваниях пушных зверей, немногочисленны. Куликов и Тютюнник [1978] изучали со-

стояние неспецифических факторов иммунитета при экспериментальной железодефицитной анемии норки. В течение месяца норки получали рацион, содержащий отходы минтая, при этом у подопытных животных развивалась железодефицитная анемия. Авторы обнаружили в начале опыта снижение активности бета-лизинов и увеличение активности комплемента. В дальнейшем показатели лизоцима и комплемента превысили уровень контроля, а бета-лизинов имели тенденцию к повышению. В конце эксперимента все показатели были выше, чем в контроле. Малинина и Берестов [1978] определяли неспецифический иммунитет при алеутской

болезни норок. Анализ состояния гуморальной защитной системы у норок различных генотипов при вирусном плазмозитозе дал интересные результаты. В большинстве случаев активность сывороточного лизоцима и комплемента при заболевании была повышена. Бета-лизины характеризовались широкими колебаниями активности. Куликов и Аникиева [1977] экспериментально заражали песцов (щенков и взрослых зверей) плероцеркоидами лентеца широкого. Авторы установили, что уровень активности гуморальных факторов при дифиллоботриозе песцов зависит от возраста животного и дозы заражения.

Токсаскаридоз – широко распространенное хроническое заболевание пушных зверей клеточного содержания. В песцовых хозяйствах оно имеет повсеместное распространение [Дубницкий, 1967; Токсаскаридоз песцов, 1984]. Возбудитель заболевания – нематода *Toxascaris leonina* Leiper 1907 – паразит хищных млекопитающих семейства собачьих и кошачьих, космополит. Нематода развивается по аскаридоидному типу: яйца созревают во внешней среде, из проглоченных яиц в двенадцатиперстной кишке выходят личинки, которые внедряются в слизистую оболочку, дважды линяют, а затем выходят в просвет кишечника и там достигают половой зрелости [Мозговой, 1953]. Личиночные стадии нематоды обладают высокой выживаемостью и устойчивостью к неблагоприятным факторам внешней среды [Аникиева, Аниканова, 2004]. Установлено, что в регуляции паразито-хозяйинных отношений при токсаскаридозе песцов ведущую роль играет хозяин, который ограничивает численность нематод, замедляет или прекращает развитие мигрирующих личинок [Аникиева и др., 1990]. Защитные реакции зависят от физиологического состояния и возраста песцов, а активность отдельных компонентов неспецифических факторов иммунитета имеет разную направленность [Токсаскаридоз песцов, 1984].

Данная работа продолжает изучение неспецифических факторов иммунитета – комплемента, лизоцима и бета-лизинов при токсаскаридозе песцов. В задачу исследования входило изучение активности гуморальных факторов при разных дозах заражения хозяина и стадиях развития нематоды *T. leonina*.

Материал и методы

В эксперименте участвовало 40 щенков голубых песцов в возрасте трех месяцев. Щенки находились на общехозяйственном рационе и со-

держались индивидуально в условиях, исключающих возможность спонтанной инвазии. Были сформированы 4 группы животных. Первой группе щенков было задано по 10 инвазионных яиц нематоды, второй – по 100, третьей – по 1 тыс., четвертая группа служила контролем. Кровь получали из планарной вены утром до кормления животных непосредственно перед заражением зверей, а затем на 3, 7, 14, 30 и 60 день после него соответственно основным стадиям развития нематоды: 3–14 дни – личиночный, 15–30 – достижение половозрелости, 60 день – продуцирование яиц. Активность лизоцима определялась по Дорофейчук [1968], лизинов – по Бухарину и др. [1972], комплемента – по Вагнеру в модификации Густова [1971].

Результаты

В результате проведенных исследований было установлено, что при первой и третьей дозах заражения щенков яйцами нематоды (10 и 1000 яиц) динамика активности лизоцима была сходной: наиболее высокие показатели обнаружены на 7-й день после заражения, низкие – на 30-й день. При дозе заражения в 100 яиц подъем активности был более продолжителен и менее выражен, а ее спад отмечен на 60-й день после заражения. Диапазон изменения показателей по сравнению с контрольными значениями варьировал от +9 % до –10 % в первой группе щенков, от +5 % до –11 % во второй и от +12 % до –12 % в третьей (рис. 1). Суммарное отклонение от контроля составило в первой группе 27 %, во второй – 29 %, третьей – 31 %.

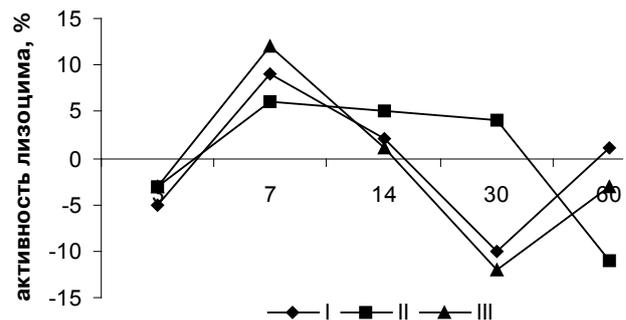


Рис. 1. Динамика активности лизоцима при токсаскаридозе песцов (в % от контроля)

Бета-литическая активность сыворотки крови щенков при всех трех дозах заражения изменялась сходным образом: показатели снижались на 3–7-й день после заражения, повышались на 14-й день и стабилизировались в течение 30–60-го дня. Уровень отклонения показателей от нормы (контроля) зависел

от дозы заражения: при заражении щенков 10 яйцами нематоды диапазон варьирования бета-лизинов был минимален, при дозе 1000 яиц – максимален. При заражении щенков 100 яйцами показатели бета-лизинов занимали промежуточное положение. Бета-литическая активность в первой группе щенков по сравнению с контролем изменялась от +59 % до –26 %, во второй – от +70 % до –50 %, в третьей – от +4 % до –64 % (рис. 2). Суммарное отклонение от контроля составило в первой группе 109 %, во второй – 154 %, третьей – 125 %.

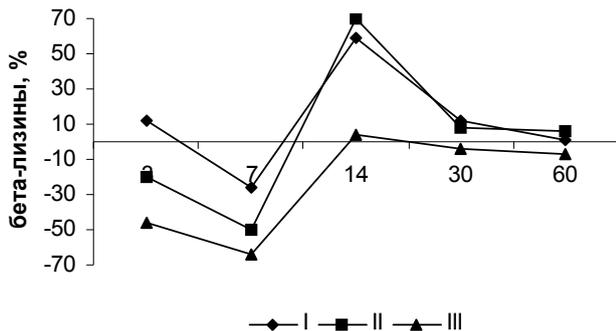


Рис. 2. Активность бета-лизинов при токсамкариндозе песцов (в % от контроля)

Для комплемента установлено увеличение активности к 14-му дню после заражения щенков и снижение показателей к 30–60-му дню. Максимальный уровень комплемента наблюдался у щенков с минимальной дозой заражения (10 яиц), минимальный – у щенков с дозой заражения 100 яиц. Показатели комплемента у щенков с дозой 1 тыс. яиц занимали промежуточное положение. У первой группы щенков активность комплемента изменялась от +1 % до +24 %, во второй группе – от +7 % до –4 %, третьей – от +11 % до –7 % (рис. 3). Суммарное отклонение активности комплемента от контроля составило в первой группе щенков 48 %, во второй – 16 %, третьей – 25 %.

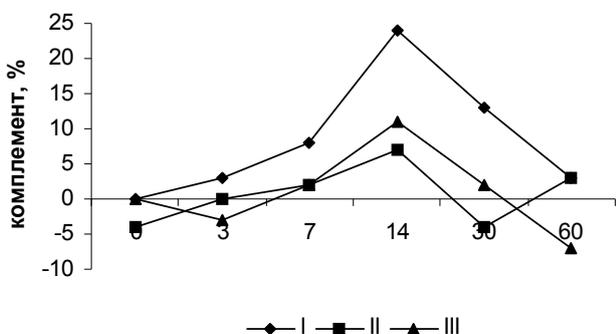


Рис. 3. Активность комплемента при токсамкариндозе песцов (в % от контроля)

Обсуждение

Известно, что иммунитет при гельминтозах отличается от иммунитета при инфекционных и протозойных заболеваниях и имеет ряд существенных особенностей, обусловленных свойствами гельминтов. К их числу относят отсутствие у большинства гельминтов способности к размножению в теле хозяина, крупные размеры, препятствующие тесному контакту с иммунокомпетентными клетками хозяина, сложность морфологической организации, сложность и относительную длительность онтогенеза гельминтов. Хозяин и паразит находятся в антагонистических отношениях, напряженность которых зависит как от врожденного иммунитета – естественной резистентности организма хозяина, так и от специфики паразита. В силу указанных особенностей иммунитет при гельминтозах характеризуется многообразием и многофазностью проявлений, слабой напряженностью и низкой специфичностью [Астафьев, 1998; Бекиш, Бекиш, 2008].

Проведенные нами исследования показали важную роль факторов естественной защиты при токсамкариндозе песцов. Нами установлены различия в активности отдельных компонентов гуморальных факторов. Наибольшие колебания свойственны бета-лизину и комплементу. Динамика бета-лизина у щенков при всех трех дозах заражения изменяется сходным образом: показатели снижаются на 3–7-й день после заражения, повышаются на 14-й день и стабилизируются в течение 30–60-го дня. Уровень отклонения показателей от нормы (контроля) зависит от дозы заражения: при заражении щенков 10 яйцами нематоды диапазон варьирования бета-лизинов минимален, при дозе 1000 яиц – максимален. При заражении щенков 100 яйцами показатели бета-лизинов занимают промежуточное положение. Полученные нами материалы согласуются с данными о высокой чувствительности и лабильности данного фактора резистентности при ряде инфекционных заболеваний [Малинина, Берестов, 1978]. Нами установлено увеличение активности комплемента к 14-му дню после заражения щенков и снижение его показателей на 30–60-й день. Максимальный уровень комплемента наблюдается у щенков с минимальной дозой заражения (10 яиц), минимальный – у щенков с дозой заражения 100 яиц. Показатели комплемента у щенков с дозой 1 тыс. яиц занимают промежуточное положение. Минимальные отклонения в показателях активности при токсамкариндозе характерны для лизоцима. При низкой и высокой дозах заражения щенков яйцами нематоды (10 и 1000 яиц) динамика активности лизоцима сход-

на: наиболее высокие показатели обнаруживаются на 7-й день после заражения, низкие – на 30-й день. При дозе заражения в 100 яиц подъем активности более продолжителен и менее выражен, а ее спад отмечен на 60-й день после заражения.

Таким образом, нами показано, что механизм формирования иммунитета при токскаридозе песцов связан с изменением активности гуморальных факторов. Они создают определенный уровень резистентности, направленный на поддержание гомеостатического равновесия организма. В защитных реакциях песцов при токскаридозе участвуют все изучаемые нами компоненты неспецифического звена иммунитета, что подтверждает важную роль гуморальных факторов при заболеваниях животных. Активность гуморальных факторов зависит как от дозы заражения хозяина, так и от стадии развития гельминта. Выраженное воздействие на хозяина оказывают личиночные стадии *T. leonina* в период миграции и линьки.

Авторы благодарят В. А. Куликова за предоставленные материалы и помощь в работе.

Литература

Аникиева Л. В., Аниканова В. С. Экологические адаптации паразитов к обитанию в условиях искусственного содержания хозяев // Проблемы экологической физиологии пушных зверей. Вып. 3. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР, 2004. С. 161–170.

Аникиева Л. В., Аниканова В. С., Осташкова В. В. Паразито-хозяинные отношения при токскаридозе

дозе песцов // Паразитология. 1990. Т. 24, вып. 3. С. 225–231.

Астафьев Б. А. Достижения отечественной науки в изучении патогенеза гельминтозов // Мед. паразитол. и паразитарные болезни. 1998. № 2. С. 8–11.

Бекиш О. Я., Бекиш В. Я. Цестодозы человека. Витебск: Витебский гос. мед. ун-т, 2008. 177 с.

Бухарин О. В., Фролов Б. А., Луда А. П. Ускоренный метод определения бета-лизинов в сыворотке крови // ЖМЭИ. 1972. № 9. С. 25–26.

Густов А. В. Клинико-иммунологическая характеристика нарушений мозгового кровообращения: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1971. 8 с.

Дорофейчук В. Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом // Лаб. дело. 1968. № 1. С. 28–30.

Дубницкий П. А. Гельминтофауна пушных зверей звероводческих хозяйств СССР // Материалы науч. конф. ВОГ. Ч. 5. М., 1967. С. 152–159.

Куликов В. А., Аникиева Л. В. Факторы неспецифического иммунитета в системе «паразит – хозяин» при дифиллоботриозе песцов // Новое в физиологии и биохимии пушных зверей. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР, 1977. С. 36–43.

Куликов В. А., Тютюнник Н. Н. Состояние неспецифических факторов иммунитета при экспериментальной железodefицитной анемии у норок // Новое в физиологии и патологии пушных зверей. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР, 1978. С. 74–81.

Малинина Г. М., Берестов В. А. Уровень активности гуморальных факторов неспецифического иммунитета при алеутской болезни норок // Там же. С. 19–31.

Мозговой А. А. Аскариды животных и человека и вызываемые ими заболевания // Основы нематологии. Т. 2. М.: Изд-во АН СССР, 1953. 351 с.

Токскаридоз песцов / Под редакцией В. А. Берестова. Петрозаводск: Карелия, 1984. 109 с.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Аникиева Лариса Васильевна

ведущий научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: anikieva@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762706

Тютюнник Николай Николаевич

главный научный сотрудник, д. с.-х. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: tyutyunnik@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762712

Аниканова Валентина Семеновна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: anikanova@krc.karelia.ru
тел. (8142) 769810

Anikieva, Larisa

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: anikieva@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762706

Tyutyunnik, Nikolai

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: tyutyunnik@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762712

Anikanova, Valentina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: anikanova@krc.karelia.ru
tel. (8142) 769810

УДК 597.2/5:577.151.04

ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ РЫБ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ЭКОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИНДИКАТОРЫ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ВОДНУЮ СРЕДУ (ОБЗОР)

Е. В. Борвинская, Л. П. Смирнов, Н. Н. Немова

Институт биологии Карельского научного центра РАН

В обзоре дана оценка изученности проблемы влияния разных типов антропогенного загрязнения водной среды: тяжелых металлов, полихлорированных бифенилов, полиароматических соединений, комплексного загрязнения – на активность глутатион-S-трансфераз (GST), ферментов фазы II биотрансформации ксенобиотиков у различных видов рыб. Показана их эколого-биохимическая роль в развитии ответных реакций на воздействие токсикантов, подчеркивается необходимость детального исследования изоферментного состава GST в связи с отсутствием единого мнения о целесообразности использования этого фермента как биомаркера загрязнения водной среды из-за противоречивости получаемых результатов. Одной из причин такой ситуации является чрезвычайно слабая изученность изоферментного состава и группового распределения представителей семейства GST, выявленных у рыб.

К л ю ч е в ы е с л о в а : глутатион-S-трансфераза, рыбы, тяжелые металлы, полихлорированные бифенилы, полиароматические углеводороды, смешанное загрязнение.

E. V. Borvinskaya, L. P. Smirnov, N. N. Nemova. GLUTATHIONE-S-TRANSFERASES IN FISH – INDICATORS OF HUMAN IMPACT ON THE AQUATIC ENVIRONMENT (REVIEW)

The review evaluates how well the problem of the effect of various types of anthropogenic water pollution (heavy metals, PCBs, PAH, mixed pollution) on the activity of glutathione-S-transferase (GST), and enzymes at phase II of xenobiotic biotransformation in different fish species has been studied. Their ecological-biochemical role in development of responses to toxic impact is demonstrated. We stress the need for detailed research into GST isoenzyme composition since there is no agreement as to expediency of using this enzyme as a biomarker of water pollution because the results obtained are rather contradictory. One of the reasons for that is very poor knowledge of the isoenzyme composition and group distribution of GST family representatives in fish.

Key words: glutathione-S-transferase, fish, heavy metals, polychlorinated biphenyls, polyaromatic hydrocarbons, mixed pollution.

Проблема устойчивости организма, его адаптации к изменяющимся условиям среды остается одной из ключевых проблем био-

логии. Несмотря на то что приспособительные возможности живых систем проявляются на всех уровнях биологической организации – от

молекулярного до биоценотического, персистенция того или иного вида в конечном счете определяется адаптационными возможностями каждой отдельной особи, реализующимися на биохимическом уровне.

В настоящее время мир живого сталкивается и вынужден адаптироваться к постоянному росту в окружающей среде уровня и разнообразия чужеродных химических соединений техногенного происхождения, не встречающихся в природе. Известно, что обезвреживание и выведение ксенобиотиков различного типа у животных осуществляется путем метаболических превращений через фазы I и II биотрансформации. В реакциях детоксикации задействован большой спектр энзимов, тем не менее в мониторинговых исследованиях наиболее часто используются ферменты первой фазы биотрансформации – этоксирезорифин O-деэтилаза (EROD) и цитохром P450 (CYP1A) [Whyte et al., 2000]. Кроме этого, предприняты неоднократные попытки использовать для этих целей глутатион-S-трансферазы (GST, E.C.2.5.1.18) – представителей каскада ферментов фазы II биотрансформации ксенобиотиков [Burgeot et al., 1996; Gallagher et al., 2001]. GST активно участвуют в обезвреживании токсичных поллютантов, таких как различные полиароматические углеводороды, хлорированные бифенилы, тяжелые металлы и др. [Padrós et al., 2003; Ahmad et al., 2006; Cazenave et al., 2006]. Кроме того, глутатион-S-трансферазы, наряду с такими типичными антиоксидантными ферментами, как каталаза, супероксиддисмутаза и глутатион пероксидаза, принимают участие в защите клетки от последствий окислительного стресса.

Состояние водных экосистем в большей степени, чем наземных, зависит от факторов среды, потому что гидробионты особо чувствительны к нарушению ее химического состава. Рыбы, в отличие от других представителей обширной группы обитателей водных пространств, являются наиболее удобными объектами в исследованиях, позволяющих установить степень влияния на живой организм различных факторов, в том числе обладающих токсическими свойствами [Немова, Высоцкая, 2004]. Они интегрируют неблагоприятные эффекты комплекса различных воздействий, имеют достаточно большие размеры и продолжительность жизни, обладают резистентностью к сублетальным воздействиям различных веществ, могут быть использованы для прогноза изменений в водных средах [Кашулин, 2000; Немова, 2005].

В настоящее время непрерывно растет список работ по изучению влияния различных факторов среды, главным образом антропогенного

происхождения, на активность GST у гидробионтов. Тем не менее в научном сообществе до сих пор не выработано единого мнения и ведется активная дискуссия о целесообразности использования GST как биомаркера загрязнения водной среды [Stephensen et al., 2000; Mdegela et al., 2006a, b]. Это связано с тем, что в некоторых экспериментах по воздействию ксенобиотиков на гидробионтов не было отмечено достоверных изменений активности фермента или полученные результаты были противоречивы [Filho et al., 2001; Porte et al., 2002; van der Oost et al., 2003; Sanchez et al., 2005; Krca et al., 2007]. С другой стороны, свойства, изоферментный состав и принадлежность к той или иной группе у представителей семейства GST, выявленных у рыб, до сих пор практически не изучены, хотя исследования в этой области могли бы внести вклад в разрешение споров о применимости GST как биомаркера и понимание причин противоречивости получаемых разными авторами результатов [Blanchette et al., 2007; Vieira et al., 2008].

Цель представленного обзора литературы – обобщить накопленные данные по влиянию различных антропогенных загрязнителей на активность глутатион-S-трансфераз рыб и оценить возможность применения этих ферментов как показателей экологического благополучия организмов при эколого-биохимическом мониторинге и тестировании.

Влияние тяжелых металлов на активность GST

Среди загрязнителей, способных индуцировать сильнейший окислительный стресс, особое внимание привлекают тяжелые металлы (ТМ) благодаря их способности аккумулироваться в организмах и накапливаться в пищевой цепи [Fernandes et al., 2008].

Одним из патогенных эффектов, который обнаруживают многие ТМ, является их модифицирующее воздействие на стабильность клеточных мембран, от которых зависит жизнеспособность клетки в целом. Они способны как напрямую связываться с липидными молекулами, изменяя их заряд и внутреннюю конфигурацию, так и действовать опосредованно, запуская процесс образования свободных радикалов [Свес, 1990]. Токсичность ТМ чаще всего обусловлена их переходной валентностью, которая позволяет вовлекать ионы металлов в окислительно-восстановительные циклы. Например, восстановление меди, железа и хрома сопряжено с распадом перекиси водорода и образованием гидроксильных радикалов,

которые в свою очередь могут непосредственно взаимодействовать с макромолекулами и инициировать каскад перекисного окисления липидов [Kehrer, 2000; Chapman et al., 2004; Moriwaki et al., 2008].

Участие GST в элиминации последствий воздействия продуктов металл-индуцированного окислительного стресса было показано у многих видов. Инъекция 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ хлорида кадмия привела к быстрой, но кратковременной индукции активности EROD в печени морского карася (*Sparus aurata*), тогда как активация GST наступала позже и сохранялась в течение всего периода воздействия (до 48 часов) [Bouraoui et al., 2008].

Аналогичный эффект получили Ким и соавторы [Kim et al., 2009] при изучении экспрессии глутатион-S-трансферазы у иглобрюха (*Takifugu obscurus*), содержавшегося в воде с хлоридом кадмия в концентрации 0,005 мг/л. Из выделенных четырех субъединиц GST две (GST микросом и GST класса μ) демонстрировали времязависимое изменение экспрессии с максимумом содержания транскриптов через 24 часа воздействия, еще одна (класса θ) – кратковременные пики активации синтеза на 6 и 48-й час. В то же время отсутствовала экспрессия субъединицы GST класса α , в значительном количестве представленной в кишечнике и печени *T. obscurus*.

Положительная корреляция была выявлена между количеством транскриптов GST класса θ и концентрацией цинка (0,001–0,1 мМ) в первичной культуре клеток изолированного эпителия жабр радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) [Walker et al., 2007]. Неравномерная экспрессия субъединиц GST после инъекции 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ оксида хрома (VI) наблюдалась в печени зимней камбалы (*Pseudopleuronectes americanus*) [Chapman et al., 2004].

Кривые зависимости активности GST от концентрации металла имеют выраженную колоколообразную форму, когда при увеличении дозы металла активность фермента сначала нарастает, а затем начинает снижаться. Такие результаты были, например, получены при искусственном хроническом воздействии ионов меди на карася (*Carassius auratus*) в среде с диапазоном концентраций загрязнителя от 0,0025 до 0,25 мг/л. Максимум активности GST наблюдался при концентрации CuSO_4 – 0,005 мг/мл [Liu et al., 2006]. Значительная редукция активности GST была отмечена в жабрах молоди карпа (*Cyprinus carpio*) после воздействия хлорида цинка в концентрации 0,1 мМ в течение 48 часов [Franco et al., 2008], а воздействие 20 μM (0,003 г/л) и 500 μM сульфата железа приводит к дозозависимой супрессии GST в гепато-

панкреасе и почках карася (*Carassius auratus*) [Bagnyukova et al., 2006]. Подавляющее влияние на активность GST высоких концентраций хрома (1 мМ) обнаружено в почках угря (*Anguilla anguilla*) [Ahmad et al., 2006].

В печени ельца (*Leuciscus alburnoides*) из водоема, расположенного в зоне медного рудника и загрязненного медью (60–110 нМ) и селеном (200 нМ), обнаружена более высокая активность GST по сравнению с рыбами из экологически чистой зоны [Lopes et al., 2001].

Выявлена отрицательная коррелятивная связь между активностью GST и перекисным окислением липидов в печени остроноса (*Liza saliens*) из залива Esmoriz-Paramos (Португалия) [Fernandes et al., 2008]. Сен и Семиз [Sen, Semiz, 2007] показали, что активность GST в цитозольной фракции печени *L. saliens* подавляется ТМ, которые по степени ингибирующего действия расположены в следующем порядке: Hg (0,1 мМ) > Sb (0,1 мМ) > Cd (0,1 мМ) > Cu (0,1 мМ) > Zn (0,1 мМ) > Fe^{3+} (1 мМ) > Co (1 мМ) > Fe^{2+} (1 мМ), что согласуется с результатами, полученными для гомогенатов жабр радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) [Arabi, Alaeddini, 2005]. Эффект ингибирования можно частично уменьшить, увеличивая количество глутатиона в инкубационной смеси [Sen, Semiz, 2007].

У мраморного клариаса (*Clarias gariepinus*), выловленного вблизи шести крупных промышленных предприятий на реке Огун (Нигерия), накоплению металлов соответствовало значительное увеличение активности GST и уровня восстановленного глутатиона во всех органах, кроме жабр, где наблюдалось падение активности GST и содержания восстановленного глутатиона (GSH) [Farombi et al., 2007].

В водной среде тяжелые металлы обычно присутствуют в достаточно низких концентрациях, и, как правило, обитатели водоемов сталкиваются либо со смесью нескольких металлов, либо с металлом в комбинации с органическими загрязнителями [Eckwert et al., 1997]. Пандей с соавторами [Pandey et al., 2008], проводя в течение 30 дней аквариальный эксперимент по действию смеси металлов CuCl_2 (50 $\mu\text{g}/\text{l}$), CdCl_2 (80 $\mu\text{g}/\text{l}$), FeCl_2 (750 $\mu\text{g}/\text{l}$) и NiCl_2 (150 $\mu\text{g}/\text{l}$) на пятнистого змееголова (*Channa punctata*), наблюдали снижение в тканях активности GST и уровня восстановленного глутатиона.

Как происходит ингибирование активности GST тяжелыми металлами, до сих пор не выяснено. Некоторые исследователи полагают, что этот эффект связан с истощением клеточных запасов восстановленного глутатиона [Stacey, Klaassen, 1981]. Сульфгидрильные группы низ-

комолекулярных тиолов, таких как глутатион, обладают высокой афинностью к катионам ТМ и в первую очередь участвуют в их инактивации, определяя такой важный параметр устойчивости клетки, как металл-связывающая емкость цитоплазмы [Rabestein et al., 1985]. Кроме того, защитный эффект глутатиона обуславливается его способностью нейтрализовать свободные радикалы и таким образом блокировать перекисное окисление липидов. Истощение запасов восстановленного глутатиона подвергает риску многие аспекты обеспечения жизнедеятельности клетки, и в том числе саму антиоксидантную систему [Wu et al., 2007].

Существует мнение, что снижение активности GST может быть связано с взаимодействием ТМ с сульфгидрильными группами самого фермента [Iskan et al., 1995; Coban et al., 1996; Sen, Semiz, 2007].

Еще один механизм подавления металлами активности GST, вероятно, осуществляется через регуляцию экспрессии фермента. В частности, Cr (VI) и его восстановленный продукт Cr (III) ингибируют связывание ядерного фактора транскрипции каппа-В (NF-κB) с промотором генов супероксиддисмутазы, ксантин оксидазы и GST. Ингибирование NF-κB не дает возможности защитной системе клеток, в том числе связанной с GST класса π, блокировать активные формы кислорода, индуцирующие апоптоз [Charpman et al., 2004].

Таким образом, воздействие как низких, так и высоких концентраций ТМ способно модулировать активность GST, что отражает важную роль фермента в преодолении последствий токсического воздействия. Индукция GST может считаться адаптацией, позволяющей биологическим системам частично или полностью преодолевать окислительный стресс, вызванный ТМ [Liu et al., 2006]. Однако из-за большого реакционного потенциала, которым обладают многие ТМ, в высоких концентрациях они способны подавлять защитные ферментные системы клетки, ставя под вопрос ее дальнейшее выживание в неблагоприятных условиях среды [Bouraqoui et al., 2008].

Влияние полихлорбифенилов на активность GST

Полихлорированные бифенилы (PCB), диоксины и ртуть называют «суперэкоксикантами XXI века» из-за их чрезвычайной устойчивости в природе и способности к циркуляции по пищевой цепи и максимальной аккумуляции у видов, стоящих на верхних ступенях трофической пирамиды.

Многочисленные эксперименты по воздействию различных доз (до 70 мг/кг или до 22 мг/л) PCB на GST лосося (*Salmo salar*), радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*), угря (*Anguilla anguilla*) и карпа (*Cyprinus carpio*) показывают стойкий длительный эффект (до 9 недель) дозы- и времязависимой индукции [Pérez-López et al., 2002a, b; Schmidt et al., 2004; Arukwe, Nordbo, 2008]. При этом было показано, что процесс индукции ассоциирован преимущественно с GST класса π, что позволяет использовать эти изоэнозимы как специфические биомаркеры воздействия PCB [Pérez-López et al., 2002b; Arukwe, Nordbo, 2008]. Наряду с GST под воздействием хлорированных бифенилов происходит активация и других компонентов системы детоксикации, в том числе CYP1A1 [Arukwe, Nordbo, 2008]. Зачастую ответная реакция GST развивается с задержкой относительно ферментов фазы I биотрансформации, что подтверждает независимость их активации. Так, при воздействии смеси PCB «Clophen A40» на самок камбалы (*Pleuronectes platessa*) реакция развивалась лишь на 16-й день, но не на 10-й, как в случае с CYP1A1 [Boon et al., 1992].

Активность GST в печени американского карликового сомика (*Ameiurus nebulosus*), пойманного в загрязненной зоне реки Сент-Лоуренс (Канада), была в 3 раза выше, чем в контроле. Еще более высокие значения обнаружены в мышцах и почках. При этом содержание PCB в мышцах было в 22 раза выше по сравнению с рыбами из чистой зоны [Otto, Moon, 1996].

Анализ экспрессии GST в печени и почках угря (*Anguilla anguilla*) в ответ на токсический стресс, вызванный смесью PCB, показал, что GST в этих органах существует в виде трех изоформ, значительно отличающихся по своим свойствам. Однократная инъекция PCB в дозе 25 мг/кг приводила к значительной индукции всех изоформ GST в печени, тогда как в почках уровень экспрессии фермента оставался без изменений [Pérez-López et al., 2002a].

Однако не все хлорзамещенные соединения бифенилов оказывают индуцирующее действие на GST. Так, планарный 3,3',4,4',5-пентахлорбифенил, который также называют «антиэстрогеном» (PCB-105), скармливали с пищей двум видам рыб в течение 4 дней до достижения общей дозы ксенобиотика, равной 10 мг/кг. Через 17 дней у форели (*Oncorhynchus mykiss*) была отмечена значительная индукция EROD и CYP1A1, тогда как активность GST была существенно снижена. А у трески (*Gadus morhua*) активность GST не показала изменений относительно контроля, несмотря на то что содержание PCB в тканях выросло в 1000 раз [Bernhoft et al., 1994].

Влияние полиароматических углеводов

Наиболее известным и одним из самых опасных представителей группы полиароматических углеводов (ПАУ) считается бензпирен (БП) – мощный канцероген, образующийся при сгорании углеводородного топлива. Особенностью метаболизма бензпирена является то, что он активируется ферментами фазы I биотрансформации ксенобиотиков, которые превращают его в истинный канцероген – дигидроксиэпоксид, способный встраиваться в молекулы ДНК и стимулировать как мутагенез, так и канцерогенез. Исправление ошибок первой фазы биотрансформации происходит за счет ферментов фазы II, в том числе GST, которые катализируют связывание электрофильной функциональной группы активированного метаболита с восстановленным глутатионом и тем самым дезактивируют его. В связи с этим предполагают, что этот фермент играет большую роль в устойчивости организмов к индуцированному канцерогенезу [Varanasi et al., 1987; Stalker et al., 1991].

В пользу этой гипотезы свидетельствуют данные по различной восприимчивости к ПАУ-индуцированному раку печени, отмеченной у двух близкородственных видов сем. Ictaluridae: относительно нечувствительного канального сома (*Ictalurus punctatus*) и более чувствительного карликового сомика (*Ameiurus nebulosus*). Однократная инъекция бензпирена в дозе 10 мг/кг не вызывала индукции GST в печени рыб, однако базовый уровень активности GST, отмеченный у *I. punctatus*, был в 1–2 раза выше, чем у *A. nebulosus* [Willett et al., 2000]. У двух видов камбал – морского языка (*Parophrys vetulus*), чувствительного к индуцированной неоплазии печени, и звездчатой камбалы (*Platichthys stellatus*), более устойчивой к новообразованиям в печени, обнаружен слабый ответ GST на воздействие БП и комплекса загрязнителей, выделенного из осадков в промышленных районах. Однако изучение экспрессии изоформ GST показало наличие у *P. stellatus* двух высокоактивных в отношении оксидов ПАУ изоформ GST, которых нет у *P. vetulus* [Collier et al., 1992]. Авторы предполагают, что именно эти изоформы стимулируют конъюгацию GSH с интермедиатами БП (например, BP-4,5-oxide) у *P. stellatus*. При введении обеим рыбам равных доз бензпирена у *P. stellatus* обнаружен более низкий, чем у *P. vetulus*, уровень метаболитов БП, способных связываться с ДНК.

Данные литературы свидетельствуют о значительных различиях в действии БП на активность GST у различных видов рыб. Так, отсут-

ствие реакции GST на БП в концентрации 2 и 50 мг/кг наблюдалось у лиманды (*Limanda limanda*) в течение 8 дней после перорального введения [van Schanke et al., 2001] и при внутрибрюшинном введении 5 мг/кг у морского языка (*P. vetulus*) [Collier, Varanasi, 1991]. В последнем случае также отсутствовала реакция GST на такие характерные индукторы, как фенобарбитал (100 мг/кг), транс-стилбеносид (500 мг/кг) и смесь полихлорбифенилов Aroclor 1254 (100 мг/кг).

Отсутствие значительных изменений GST печени было отмечено у мраморного морского ерша (*Sebasticus marmoratus*) после инъекции БП в дозе 10 мг/кг [Wang et al., 2006]. В то же время Ву с соавторами [Wu et al., 2007], изучая влияние наиболее часто встречающихся в водной среде концентраций БП (до 1000 нг/л), выявили существенный рост активности GST в селезенке *S. marmoratus* на 7 день после использования токсиканта в дозе 10, 100 и 1000 нг/л, что говорит о высокой чувствительности данного вида рыб к органическому загрязнению. При концентрациях 10 и 100 нг/л индукция сохранялась до 25 дней, а при 1000 нг/л в конце эксперимента произошло снижение активности GST, возможно, из-за истощения запасов восстановленного глутатиона в клетке.

Содержание мраморного клариаса (*Clarias gariepinus*) в воде с небольшими концентрациями БП (до 5 мг/кг) показало отсутствие в печени активации EROD и GST, тогда как при дозе 5 мг/кг значительное увеличение активности EROD развивалось уже на первый, а GST – на третий день воздействия. При этом более выраженный ответ был отмечен у самок по сравнению с самцами, что, возможно, свидетельствует об их большей устойчивости к загрязнению ПАУ [Mdegela et al., 2006a, b].

У арктического гольца (*Salvelinus alpinus*) было зафиксировано усиление ответа на восьмой день после двукратных инъекций БП в дозе 3 мг/кг [Padrós et al., 2003]. У молоди морского карася (*Sparus aurata*) при однократной внутрибрюшинной инъекции 20 мг/кг БП была отмечена тенденция к повышению активности GST, усиление которой стало значимым через 48 часов [Banni et al., 2008]. Активность GST у морского леща (*Rhabdosargus sarba*) значительно увеличивалась на третий день после инъекции 35 мг/кг БП, тогда как активность EROD оставалась неизменной [Xu et al., 2001].

К другим наиболее часто встречающимся в водоемах ароматическим токсикантам относятся различные галогензамещенные производные бензола (ХБ). Продукты хлорирования бензола широко применяются в промышленности для производства полимеров, резины, лакокрасоч-

ных изделий, пестицидов и др. Значительная часть их попадает в окружающую среду в составе отходов целлюлозно-бумажных, сталелитейных и нефтеперерабатывающих предприятий и в активированном осадке водоочистительных объектов [Qian et al., 2004].

Активация GST была показана при внутрибрюшинной инъекции хлорбензола (до 2,0 мг/кг), 1,3-дихлорбензола (до 0,8 мг/кг), 1,4-дихлорбензола (до 0,63 мг/кг) и п-хлорметилбензола (до 0,75 мг/кг) карасям (*Carassius auratus*) в течение 30 дней [Qian et al., 2004]. Кратковременное воздействие 1,2-дихлорбензола в концентрациях до 10 мг/л и 1,4-дихлорбензола до 5 мг/л на дженинзию (*Jenynsia multidentata*) не повлияло на активность GST в печени, однако в жабрах и в мозгу активация GST была зафиксирована при 0,5 мг/л 1,2-дихлорбензола [Monferran et al., 2008]. Предполагается, что отсутствие активации GST в печени *J. multidentata* говорит о том, что детоксикация ХБ может происходить не как у карася путем образования конъюгатов с глутатионом, а, например, через формирование сульфатов и глюкуронидов.

Снижение активности GST в мозге у молодого карпа (*Cyprinus carpio*) вызывало действие всех концентраций (до 0,2 мг/л) водного раствора гексахлорбензола в течение 20 дней на фоне уменьшения доли восстановленного глутатиона. Возможно, это связано с большой повреждающей способностью гексахлорбензола, так как известно, что токсичность ХБ значительно увеличивается с повышением количества галогенных групп [Song et al., 2006].

В составе жидкого топлива и в продуктах его деградации присутствует смесь различных ПАУ, которая может вызвать токсический эффект, уровень которого отличается от такового составляющих. Проведенные эксперименты свидетельствуют об участии фермента в нейтрализации токсического действия компонентов нефти. Так, мраморного бубыря (*Pomatoschistus microps*) в течение 96 часов подвергали действию 15 и 30%-й водной фракции топливного масла #4 WAF, симулируя разлив нефти. Уровень индукции GST, вызванной #4 WAF, почти в два раза был выше такового, вызванного бензпиреном [Vieira et al., 2008]. Такой же результат был получен в другом токсикологическом тесте, где молодая савала (*Prochilodus lineatus*) в течение 15 дней была подвержена действию растворенной в воде фракции дизельного топлива [Simonato et al., 2008].

Данные, полученные на рыбах, пойманных в загрязненных зонах, свидетельствуют о возможности использования GST как биомаркера токсического стресса при нефтяном загряз-

нении. Например, у камбалы (*Lepidorhombus boscii*), отловленной в зоне Иберийского шельфа, обнаружен повышенный уровень GST спустя пять месяцев после массивного разлива нефти [Martínez-Gómez et al., 2006]. У бентофагов *Solea senegalensis*, подвергшихся действию хронического загрязнения (бухта Альхесирос) либо сильного разлива нефти (побережье Галиции) у берегов Испании, GST показала сильную положительную корреляцию с содержанием ПАУ в грунте и маркерами гистопатологии [Jiménez-Tenorio et al., 2008]. У особей одного из видов эквадорских тетр, которых содержали в воде, взятой из реки Varigui (Бразилия) в зоне, где пять лет назад произошел разлив нефти, выявлена повышенная активность GST. Этот факт может свидетельствовать о том, что влияние компонентов нефти на биоту носит долговременный характер и может продолжаться в течение нескольких лет после ликвидации загрязнения [Silva et al., 2009].

Влияние эндокринных деструкторов (ксеноэстрогенов)

Некоторые поллютанты представляют опасность для организмов из-за способности связываться с гормональными рецепторами и вызывать нарушения эндокринной регуляции. Их называют гормональными деструкторами или ксеноэстрогенами. К гормональным деструкторам, попадающим в окружающую среду, прежде всего относят различные фенольные производные. Одним из самых распространенных ксеноэстрогенов является 4-нонилфенол (NP). Это вещество входит в состав некоторых поверхностно-активных веществ (ПАВ), а также применяется для производства смазочных масел и смол.

Естественные эстрогены – это гормональные регуляторы ответных реакций организма на стресс [Andersson, Forlin, 1992]. Типичным ответом на воздействие эстрогенов является подавление активности монооксигеназной системы, что приводит к снижению способности к детоксикации [Ricci et al., 1999; Arukwe et al., 2000; Navas, Segner, 2000; Sole et al., 2000; Elskus, 2004]. Поэтому поступление синтетических эстрогеноподобных веществ в окружающую среду может представлять серьезную угрозу здоровью людей и животных. Как было показано, NP, подобно эстрогенам, способен модулировать экспрессию CYP1A и EROD у многих водных видов, в том числе у рыб. Однако данные по его воздействию на GST противоречивы. Так, обработка самцов лаврака (*Dicentrarchus labrax*) природным эстрогеном 17 β -эстрадиолом в

концентрациях до 5,0 мг/кг и NP в концентрации 50 мг/кг приводила к время- и дозозависимому ингибированию активности EROD и GST [Hughes et al., 2004; Vaccaro et al., 2005]. 17 β -эстрадиол, введенный морскому карасю (*Sparus auratus*) в концентрации 10 мг/кг, также вызывал снижение активности EROD, каталазы и GST, в то время как NP (до 200 мг/кг) активировал GST [Carrera et al., 2007]. Увеличение активности GST, которое затем сменилось времязависимым снижением, было зафиксировано у молоди радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) после воздействия NP в дозе до 2,2 мг/л в течение недели [Uguz et al., 2003]. Также небольшое увеличение активности GST под воздействием NP наблюдалось у атлантической трески (*Gadus morhua*) [Sturve et al., 2006].

В последние годы все больше исследований GST морских видов начинают фокусироваться на выяснении биомаркерных особенностей отдельных изоэнзимов [Mdegela et al., 2006b; Blanchette et al., 2007]. Например, специфичность ответа была показана для субъединицы GST класса μ в гонадах мраморного ривулуса (*Kryptolebias marmoratus*). Воздействие NP приводило к снижению ее экспрессии, тогда как другие синтетические эстрогены – бифенол А и октилфенол – оказывали противоположный эффект [Yu et al., 2008].

Неоднозначность реакции GST на воздействие как эстрогеноподобных соединений, так и самих биологических эстрогенов на различные виды рыб подтверждает необходимость изучения особенностей функционирования фермента. Однако слабая изученность изоферментных профилей GST водных организмов создает трудности в определении детоксикационной и биомаркерной роли отдельных изоформ [Blanchette et al., 2007].

Влияние комплексного загрязнения

Поллютанты обычно присутствуют в окружающей среде в виде сложной смеси, компоненты которой могут либо усиливать, либо подавлять действие друга друга [Fernandes et al., 2008]. GST часто используется в экологическом мониторинге как показатель общего антропогенного загрязнения, вызванного промышленными, бытовыми и сельскохозяйственными отходами.

Наибольшая чувствительность GST как индикатора неспецифического водного загрязнения выявлена у радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*), окуня (*Perca fluviatilis*) и плотвы (*Rutilus rutilus*), выловленных в зоне фабрики по производству сланцевого масла, тогда как индукция CYP1A отсутствовала [Tuvikene et al., 1999].

Повышение активности GST, наряду с другими ферментами детоксикации, по сравнению с контрольными рыбами из чистых зон также было показано у тиляпии (*Oreochromis niloticus*) [Pathiratne et al., 2008], морского окуня (*Dicentrarchus labrax*) [Stien et al., 1998], мраморного бубыря (*Pomatoschistus microps*) [Monteiro et al., 2007] и карпа (*Cyprinus carpio*) [Huang et al., 2007].

С. А. Ирейкина (2008), исследуя активность GST полосатой камбалы (*Liopsetta pinnifasciata*), отловленной в разных по уровню антропогенного загрязнения зонах залива Петра Великого в Японском море, обнаружила более высокие значения активности GST у рыб из акватории, сильно загрязненной хлорорганическими пестицидами, нефтепродуктами и тяжелыми металлами по сравнению с таковыми из чистой зоны. Стоит отметить, что индукция фермента у камбалы отличалась слабой индивидуальной, половой и возрастной вариабельностью, что подтверждает применимость GST как показателя, объективно отражающего экологическое состояние морских экосистем.

У окуней (*Dicentrarchus labrax*), помещенных в аквариум с водой, представляющей собой 1%-й раствор вторично обработанных промышленно-городских стоков г. Авейру (Португалия), наблюдали рост активности GST уже через 4 часа, который затем снижался в течение 96 часов после обработки [Gravato, Santos, 2003].

Воздействие осадков загрязненного озера Ya-Er (Китай) на серебряного карася (*Carassius auratus gibelio*) в течение 4 недель вызывало слабую индукцию GST (в 1,4 раза по сравнению с контролем) [Chen et al., 1998]. Слабая реакция GST на промышленное загрязнение была показана для речной камбалы (*Platichthys flesus*) после шестидневного воздействия осадков, собранных из импактных областей побережья Италии [Viganò et al., 2001].

Заключение

Как показал анализ имеющейся в нашем распоряжении литературы, глутатион-S-трансферазы являются незаменимыми компонентами развития биохимической адаптации клеток к воздействию широкого круга всевозможных токсических веществ антропогенного происхождения. Модифицирующее действие на активность GST таких опасных загрязнителей, как галогенированные ПАУ, бифенилы, бензпирен, эстрогеноподобные соединения и тяжелые металлы, подтверждено многочисленными лабораторными и полевыми

исследованиями. Значительная чувствительность GST к большому диапазону химических загрязнений оправдывает применение этих ферментов в качестве биомаркеров для оценки общего антропогенного загрязнения водоемов. Однако высокая чувствительность энзимов соседствует с низкой специфичностью, что создает множество трудностей для исследователей. Некоторые авторы отмечают неубедительность GST как биоиндикатора того или иного вида загрязнения, так как в ряде случаев ответ фермента может быть противоречивым или отсутствовать.

По нашему мнению, успешное использование биомаркеров для эколого-биохимического мониторинга окружающей среды требует четкого понимания механизмов, лежащих в основе той или иной адаптивной реакции. Однако, учитывая недостаточное количество работ, посвященных особенностям функционирования GST у рыб, становится понятным, почему многие исследователи испытывают затруднения в интерпретации полученных результатов. Ситуация усложняется еще и тем, что необходимо иметь в виду влияние на активность GST абиотических факторов среды (температура воды, соленость, концентрация кислорода). Кроме того, варибельность показателей может быть обусловлена таксономической принадлежностью, органной спецификой, физиологическими изменениями, связанными с годовым циклом, полом, возрастом. Также стоит обратить внимание и на субстратную специфичность GST, которая, вероятнее всего, обусловлена разнообразием классов и изоформ ферментов. Тем не менее эти моменты обычно не учитываются при проведении экологических экспериментов [Ruus et al., 2002; Napierska, Podolska, 2005; Napierska et al., 2006; Корецка, Pempkowiak, 2008]. Некоторую «турбулентность» в обсуждаемую проблему также вносит мнение о том, что невозможно создать эмпирическую модель загрязнения в лабораторных экспериментах, основанных на воздействии отдельного токсиканта, поскольку окончательный ответ организма на воздействие поллютантов зависит от результата химического взаимодействия между компонентами токсических смесей. Поэтому результаты тестирования объектов, добытых в природных водоемах, всегда дают возможность более реалистичной оценки стрессового ответа организма, чем острые лабораторные опыты [Fernandes et al., 2008; Pandey et al., 2008].

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что наборы изоферментов GST рыб могут быть рассмотрены в качестве специфических биомаркеров загрязнения и служить хорошим ин-

струментом для исследования окружающей среды. Также многие исследователи отмечают наличие у рыб механизмов генетической регуляции GST, независимых от системы фазы I биотрансформации ксенобиотиков. Это делает их уникальными биомаркерами воздействия вредных веществ и позволяет включить в систему эколого-биохимического мониторинга.

Данная работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ «Ведущие научные школы Российской Федерации» – 306.2008.4; программы Российской академии наук «Биологические Ресурсы 2009–2011», программы Российской академии наук «Биоразнообразие-2009».

Литература

Ирейкина С. А. Молекулярные биомаркеры антиоксидантной системы и биотрансформации загрязняющих веществ у рыб и моллюсков из импактных районов залива Петра Великого (Японское море): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2008. 20 с.

Кашулин Н. А. Ихтиологические основы биоиндикации загрязнения среды тяжелыми металлами: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Петрозаводск, 2000. 42 с.

Немова Н. Н. Биохимические эффекты накопления ртути у рыб. М.: Наука, 2005. 164 с.

Немова Н. Н., Высоцкая П. У. Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука, 2004. 215 с.

Ahmad I., Maria V. L., Oliveira M. et al. Oxidative stress and genotoxic effects in gill and kidney of *Anguilla anguilla* L. exposed to chromium with or without pre-exposure to beta-naphthoflavone // *Mutat. Res.* 2006. Vol. 608, N 1. P. 16–28.

Andersson T., Forlin L. Regulation of the cytochrome P450 enzyme system in fish // *Aquat. Toxicol.* 1992. Vol. 24. P. 1–20.

Arabi M., Alaeddini M. A. Metal-ion-mediated oxidative stress in the gill homogenate of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): antioxidant potential of manganese, selenium, and albumin // *Biol. Trace Elem. Res.* 2005. Vol. 108, N 1–3. P. 155–168.

Arukwe A., Celius T., Walther B. T., Goksøyr A. Effects of xenoestrogen treatment on zona radiata protein and vitellogenin expression in Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Aquat. Toxicol.* 2000. Vol. 49, N 3. P. 159–170.

Arukwe A., Nordbo B. Hepatic biotransformation responses in Atlantic salmon exposed to retinoic acids and 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (PCB congener 77) // *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2008. Vol. 147, N 4. P. 470–482.

Bagnyukova T. V., Chaharak O. I., Lushchak V. I. Coordinated response of goldfish antioxidant defenses to environmental stress // *Aquat. Toxicol.* 2006. Vol. 78, N 4. P. 325–331.

Banni M., Bouraoui Z., Ghedira J. et al. Acute effects of benzo[a]pyrene on liver phase I and II enzymes, and DNA damage on sea bream *Sparus aurata* // *Fish Physiol. Biochem.* 2008. Vol. 35, N 2. P. 293–299.

- Bernhoff A., Hektoen H., Skaare J. U., Ingebrigtsen K. Tissue distribution and effects on hepatic xenobiotic metabolising enzymes of 2,3,3',4,4'-pentachlorobiphenyl (PCB-105) in cod (*Gadus morhua*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Environ. Pollut. 1994. Vol. 85, N 3. P. 351–359.
- Blanchette B., Feng X., Singh B. R. Marine Glutathione S-Transferases // Mar. Biotechnol. 2007. Vol. 9, N 5. P. 513–542.
- Boon J. P., Everaarts J. M., Hillebrand M. T. et al. Changes in levels of hepatic biotransformation enzymes and haemoglobin levels in female plaice (*Pleuronectes platessa*) after oral administration of a technical polychlorinated biphenyl mixture (Clophen A40) // Sci. Total. Environ. 1992. Vol. 114. P. 113–133.
- Bouraoui Z., Banni M., Ghedira J. et al. Acute effects of cadmium on liver phase I and phase II enzymes and metallothionein accumulation on sea bream *Sparus aurata* // Fish Physiol. Biochem. 2008. Vol. 34, N 3. P. 201–207.
- Burgeot T., Bocquene G., Porte C. et al. Bioindicators of pollutant exposure in the northwestern Mediterranean Sea // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1996. Vol. 131. P. 125–141.
- Carrera E. P., Garsia-Lopes A., Martin del Rio Mdel P. et al. Effects of 17beta-estradiol and 4-nonylphenol on osmoregulation and hepatic enzymes in gillhead sea bream (*Sparus auratus*) // Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. 2007. Vol. 145, N 2. P. 210–217.
- Cazenave J., Bistoni M. A., Pesce S. F., Wunderlin D. A. Differential detoxification and antioxidant response in diverse organs of *Corydoras paleatus* experimentally exposed to microcystin-RR // Aquat. Toxicol. 2006. Vol. 76. P. 1–12.
- Chapman L. M., Roling J. A., Bingham L. K. et al. Construction of a subtractive library from hexavalent chromium treated winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) reveals alterations in non-selenium glutathione peroxidases // Aquat. Toxicol. 2004. Vol. 67, N 2. P. 181–194.
- Chen G., Xu Y., Xu L. et al. Influence of dioxin and metal-contaminated sediment on phase I and II biotransformation enzymes in silver crucian carp // Ecotoxicol. Environ. Saf. 1998. Vol. 40, N 3. P. 234–238.
- Coban T., Beduk Y., Iscan M. In vitro effects of cadmium and nickel on glutathione, lipid peroxidation and glutathione S-transferase in human kidney // Toxicol. In Vitro. 1996. Vol. 10. P. 241–245.
- Collier T. K., Singh S. V., Awasthi Y. C., Varanasi U. Hepatic xenobiotic metabolizing enzymes in two species of benthic fish showing different revalences of contaminant-associated liver neoplasms // Toxicol. Appl. Pharmacol. 1992. Vol. 113. P. 319–324.
- Collier T. K., Varanasi U. Hepatic activities of xenobiotic metabolizing enzymes and biliary levels of xenobiotics in English sole (*Parophrys vetulus*) exposed to environmental contaminants // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1991. Vol. 20, N 4. P. 462–473.
- Cvec G. Membrane electrostatics // Biochem. Biophys. Acta. 1990. Vol. 1031, N 3. P. 371–382.
- Eckwert H., Alberti G., Kohler H. R. The induction of stress proteins (hsp) in *Oniscus asellus* (Isopoda) as a molecular marker of multiple heavy metal exposure I. Principles and toxicological assessment // Ecotoxicology. 1997. Vol. 6. P. 249–262.
- Elskus A. A. Estradiol and estriol suppress CYP1A expression in rainbow trout primary hepatocytes // Mar. Environ. Res. 2004. Vol. 58. P. 463–467.
- Farombi E. O., Adelowo O. A., Ajimoko Y. R. Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African cat fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun River // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2007. Vol. 4, N 2. P. 158–165.
- Fernandes C., Fontainhas-Fernandes A., Ferreira M., Salgado M. A. Oxidative stress response in gill and liver of *Liza saliens*, from the Esmoriz-Paramos Coastal Lagoon, Portugal // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2008. Vol. 55. P. 262–269.
- Filho D. W., Torres M. A., Tribess T. B. et al. Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acar (*Geophagus brasiliensis*) // Braz. J. Med. Biol. Res. 2001. Vol. 34. P. 719–726.
- Franco J. L., Posser T., Mattos J. J. et al. Biochemical alterations in juvenile carp (*Cyprinus carpio*) exposed to zinc: glutathione reductase as a target // Mar. Environ. Res. 2008. Vol. 66, N 1. P. 88–89.
- Gallagher E. P., Gross T. S., Sheehy K. M. Decreased glutathione S-transferase expression and activity and altered sex steroids in Lake Apopka brown bullheads (*Ameiurus nebulosus*) // Aquat. Toxicol. 2001. Vol. 55, N 3–4. P. 223–237.
- Gravato C., Santos M. A. *Dicentrarchus labrax* biotransformation and genotoxicity responses after exposure to a secondary treated industrial/urban effluent // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2003. Vol. 55, N 3. P. 300–306.
- Huang D. J., Zhang Y. M., Song G. et al. Contaminants-induced oxidative damage on the carp *Cyprinus carpio* collected from the upper Yellow River, China // Environ. Monit. Assess. 2007. Vol. 128, N 1–3. P. 483–488.
- Hughes E. M., Gallagher E. P. Effects of 17-beta estradiol and 4-nonylphenol on phase II electrophilic detoxification pathways in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) liver // Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. 2004. Vol. 137, N 3. P. 237–247.
- Iskan M., Coban T., Eke B. C., Iscan M. Y. Differential responses of hepatic monooxygenases and glutathione S-transferases of mice to a combination of cadmium and nickel // Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. 1995. Vol. 111C. P. 61–68.
- Jiménez-Tenorio N., Salamanca M. J., Garcia-Luque E. et al. Chronic bioassay in benthic fish for the assessment of the quality of sediments in different areas of the coast of Spain impacted by acute and chronic oil spills // Environ Toxicol. 2008. Vol. 23, N 5. P. 634–642.
- Kehrer J. P. The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity // Toxicology. 2000. Vol. 149. P. 43–50.
- Kim J.-H., Raisuddin S., Rhee J.-S. et al. Molecular cloning, phylogenetic analysis and expression of a MAPEG superfamily gene from the pufferfish *Takifugu obscurus* // Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. 2009. Vol. 149. P. 358–362.
- Kopecka J., Pempkowiak J. Temporal and spatial variations of selected biomarker activities in flounder (*Platichthys flesus*) collected in the Baltic proper // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2008. Vol. 70, N 3. P. 379–391.

- Krca S., Zaja R., Calić V. et al. Hepatic biomarker responses to organic contaminants in feral chub (*Leuciscus cephalus*) – laboratory characterization and field study in the Sava River, Croatia // Environ. Toxicol. Chem. 2007. Vol. 26, N 12. P. 2620–2633.
- Liu H., Wang W., Zhang J., Wang X. Effects of copper and its ethylenediaminetetraacetate complex on the antioxidant defenses of the goldfish, *Carassius auratus* // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2006. Vol. 65, N 3. P. 350–354.
- Lopes P. A., Pinheiro T., Santos M. C. et al. Response of antioxidant enzymes in freshwater fish populations (*Leuciscus alburnoides complex*) to inorganic pollutants exposure // Sci. Total. Environ. 2001. Vol. 280, N 1–3. P. 153–163.
- Martínez-Gómez C., Campillo J. A., Benedicto J. et al. Monitoring biomarkers in fish (*Lepidorhombus boschii* and *Callionymus lyra*) from the northern Iberian shelf after the Prestige oil spill // Mar. Pollut. Bull. 2006. Vol. 53, N 5–7. P. 305–314.
- Mdegela R. H., Myburgh J., Correia D. et al. Evaluation of the gill filament-based EROD assay in African Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus*) as a monitoring tool for waterborne PAH-type contaminants // Ecotoxicology. 2006a. Vol. 15. P. 51–59.
- Mdegela R. H., Braathen M., Correia D. et al. Influence of 17 α -ethynylestradiol on CYP1A, GST and biliary FACs responses in male African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to waterborne Benzo[a]Pyrene // Ecotoxicology. 2006b. Vol. 15, N 8. P. 629–637.
- Monferran M. V., Pesce S. F., Cazenave J., Wunderlin D. A. Detoxification and antioxidant responses in diverse organs of *Jenynsia multidentata* experimentally exposed to 1,2- and 1,4-dichlorobenzene // Environ. Toxicol. 2008. Vol. 23, N 2. P. 184–192.
- Monteiro M., Quintaneiro C., Nogueira A. J. et al. Impact of chemical exposure on the fish *Pomatoschistus microps* Krøyer (1838) in estuaries of the Portuguese Northwest coast // Chemosphere. 2007. Vol. 66, N 3. P. 514–522.
- Moriwaki H., Osborne M. R., Phillips D. H. Effects of mixing metal ions on oxidative DNA damage mediated by a Fenton-type reduction // Toxicol. In Vitro. 2008. Vol. 22. P. 36–44.
- Napierska D., Kopecka J., Podolska M., Pempkowiak J. Hepatic glutathione S-transferase activity in flounder collected from contaminated and reference sites along the Polish coast // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2006. Vol. 65, N 3. P. 355–363.
- Napierska D., Podolska M. Biomarkers of contaminant exposure: results of a field study with flounder (*Platichthys flesus*) from the southern Baltic Sea // Mar. Pollut. Bull. 2005. Vol. 50, N 7. P. 758–767.
- Navas J. M., Segner H. Modulation of trout 7-ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity by estradiol and octylphenol // Mar. Environ. Res. 2000. Vol. 50. P. 157–162.
- Otto D. M., Moon T. W. Phase I and II enzymes and antioxidant responses in different tissues of brown bullheads from relatively polluted and non-polluted systems // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1996. Vol. 31, N 1. P. 141–147.
- Padrós J., Pelletier E., Ribeiro C. O. Metabolic interactions between low doses of benzo[a]pyrene and tributyltin in arctic charr (*Salvelinus alpinus*): a long-term in vivo study // Toxicol. Appl. Pharmacol. 2003. Vol. 192, N 1. P. 45–55.
- Pandey S., Parvez S., Ansari R. A. et al. Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa punctata* Bloch // Chem. Biol. Interact. 2008. Vol. 174, N 3. P. 183–192.
- Pathiratne A., Chandrasekera L. W., Pathiratne K. A. Use of biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to assess the impacts of pollution in Bolgoda Lake, an urban water body in Sri Lanka // Environ. Monit Assess. 2008. (in press)
- Pérez-López M., Nóvoa Valiñas M. C., Melgar Riol M. J. Induction of cytosolic glutathione S-transferases from Atlantic eel (*Anguilla Anguilla*) after intraperitoneal treatment with polychlorinated biphenyls // Sci. Total. Environ. 2002a. Vol. 297, N 1–3. P. 141–151.
- Pérez-López M., Nóvoa-Valiñas M. C., Melgar-Riol M. J. Glutathione S-transferase cytosolic isoforms as biomarkers of polychlorinated biphenyl (Arochlor-1254) experimental contamination in rainbow trout // Toxicol. Lett. 2002b. Vol. 136, N 2. P. 97–106.
- Porte C., Escarpín E., García de la Parra L. M. et al. Assessment of coastal pollution by combined determination of chemical and biochemical markers in *Mullus barbatus* // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2002. Vol. 235. P. 205–216.
- Qian Y., Yin D., Li Y. et al. Effects of four chlorobenzenes on serum sex steroids and hepatic microsome enzyme activities in crucian carp, *Carassius auratus* // Chemosphere. 2004. Vol. 57, N 2. P. 127–133.
- Rabestein D. L., R. Guevremont C. A. Evans, Glutathione and its metal-complexes // H. Siegel (Ed.). Metal Ions in Biological Systems. Marcel Dekker, New York, 1985. P. 104–141.
- Ricci M. S., Toscano D. G., Mattingly C. J., Toscano W. A. Estrogen receptor reduces CYP1A induction in cultured human endometrial cells // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274, N 6. P. 3430–3438.
- Ruus A., Sandvik M., Ugland K. I., Skaare J. U. Factors influencing activities of biotransformation enzymes, concentrations and compositional patterns of organochlorine contaminants in members of a marine food web // Aquat. Toxicol. 2002. Vol. 61, N 1–2. P. 73–87.
- Sanchez W., Palluel O., Meunier L. et al. Copper-induced oxidative stress in three-spined stickleback: relationship with hepatic metal levels // Environ. Toxicol. Pharmacol. 2005. Vol. 19. P. 177–183.
- Schmidt K., Steinberg C. E., Pflugmacher S., Staaks G. B. Xenobiotic substances such as PCB mixtures (Arochlor 1254) and TBT can influence swimming behavior and biotransformation activity (GST) of carp (*Cyprinus carpio*) // Environ. Toxicol. 2004. Vol. 19, N 5. P. 460–470.
- Sen A., Semiz A. Effects of metals and detergents on biotransformation and detoxification enzymes of leaping mullet (*Liza saliens*) // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2007. Vol. 68, N 3. P. 405–411.
- Silva C. A., Oliveira Ribeiro C. A., Katsumiti A. et al. Evaluation of waterborne exposure to oil spill 5 years after an accident in Southern Brazil // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2009. Vol. 72, N 2. P. 400–409.
- Simonato J. D., Guedes C. L., Martinez C. B. Biochemical, physiological, and histological changes

in the neotropical fish *Prochilodus lineatus* exposed to diesel oil // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2008. Vol. 69, N 1. P. 112–120.

Sole M., Porte C., Barcelo D. Vitellogenin induction and other biochemical responses in carp (*Cyprinus carpio*) after experimental injection with 17 β -ethynylestradiol // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2000. Vol. 38. P. 494–500.

Song S. B., Xu Y., Zhou B. S. Effects of hexachlorobenzene on antioxidant status of liver and brain of common carp (*Cyprinus carpio*) // *Chemosphere.* 2006. Vol. 65, N 4. P. 699–706.

Stacey N. H., Klaassen C. D. Comparison of the effects of metals in cellular injury and lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes // *J. Toxicol. Environ. Health.* 1981. Vol. 7. P. 147–189.

Stalker M. J., Kirby G. M., Kocak T. E. et al. Loss of glutathione S-transferases in pollution-associated liver neoplasms in white suckers (*Catostomus commersoni*) from Lake Ontario // *Carcinogenesis.* 1991. Vol. 12, N 12. P. 2221–2226.

Stephensen E., Svavarsson J., Sturve J. et al. Biochemical indicators of pollution exposure in shorthorn sculpin (*Myoxocephalus scorpius*), caught in four harbours on the southwest coast of Iceland // *Aquat. Toxicol.* 2000. Vol. 48. P. 431–442.

Stien X., Percic P., Gnassia-Barelli M. et al. Evaluation of biomarkers in caged fishes and mussels to assess the quality of waters in a bay of the NW Mediterranean Sea // *Environ. Pollut.* 1998. Vol. 99, N 3. P. 339–345.

Sturve J., Hasselberg L., Fälth H. et al. Effects of North Sea oil and alkylphenols on biomarker responses in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) // *Aquat. Toxicol.* 2006. Vol. 78.

Tuvikene A., Huuskonen S., Koponen K. et al. Oil shale processing as a source of aquatic pollution: monitoring of the biologic effects in caged and feral freshwater fish // *Environ. Health Perspect.* 1999. Vol. 107, N 9. P. 745–752.

Uguz C., Iscan M., Ergüven A. et al. The bioaccumulation of nonylphenol and its adverse effect on the liver of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) // *Environ. Res.* 2003. Vol. 92, N 3. P. 262–270.

Vaccaro E., Meucci V., Intorre L. et al. Effects of 17 β -estradiol, 4-nonylphenol and PCB 126 on the estrogenic activity and phase 1 and 2 biotransformation enzymes in male sea bass (*Dicentrarchus labrax*) // *Aquat. Toxicol.* 2005. Vol. 75, N 4. P. 293–305.

van der Oost R., Beyer J., Vermeulen P. E. Fish Bioaccumulation and biomarkers in environmental risk

assessment: a review // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2003. Vol. 13. P. 57–149.

van Schancke A., Holtz F., van der Meer J. P. et al. Dose- and time-dependent formation of biliary benzo[a]pyrene metabolites in the marine flatfish dab (*Limanda limanda*) // *Environ. Toxicol. Chem.* 2001. Vol. 20, N 8. P. 1641–1647.

Varanasi U., Stein J. E., Nishimoto M. et al. Chemical Carcinogenesis in Feral Fish: Uptake, Activation, and Detoxication of Organic Xenobiotics // *Environ. Health Perspect.* 1987. Vol. 71. P. 155–170.

Vieira L. R., Sousa A., Frasco M. F. et al. Acute effects of Benzo[a]pyrene, anthracene and a fuel oil on biomarkers of the common goby Pomatoschistus microps (*Teleostei, Gobiidae*) // *Sci. Total. Environ.* 2008. Vol. 395, N 2–3. P. 87–100.

Viganò L., Arilloi A., Falugi C. et al. Biomarkers of exposure and effect in flounder (*Platichthys flesus*) exposed to sediments of the Adriatic sea // *Mar. Pollut. Bull.* 2001. Vol. 42, N 10. P. 887–894.

Walker P. A., Bury N. R., Hogstrand C. Influence of culture conditions on metal-induced responses in a cultured rainbow trout gill epithelium // *Environ. Sci. Technol.* 2007. Vol. 41, N 18. P. 6505–6513.

Wang C., Zhao Y., Zheng R. et al. Effects of tributyltin, benzo[a]pyrene, and their mixture on antioxidant defense systems in *Sebastiscus marmoratus* // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2006. Vol. 65, N 3. P. 381–387.

Whyte J. J., Jung R. E., Schmitt C. J., Tillitt D. D. Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity in fish as a biomarker of chemical exposure // *Crit. Rev. Toxicol.* 2000. Vol. 30. P. 347–570.

Willett K. L., Gardinali P. R., Lienesch L. A., Di Giulio R. T. Comparative metabolism and excretion of benzo(a)pyrene in 2 species of ictalurid catfish // *Toxicol. Sci.* 2000. Vol. 58, N 1. P. 68–76.

Wu Y. Q., Wang C. G., Wang Y. et al. Antioxidant responses to benzo[a]pyrene, tributyltin and their mixture in the spleen of *Sebastiscus marmoratus* // *J. Environ. Sci.* 2007. Vol. 19, N 9. P. 1129–1135.

Xu L., Chen J., Zhang Y. et al. Biomarker studies on gold-lined sea bream (*Rhabdosargus sarba*) exposed to benzo[a]pyrene // *Water. Sci. Technol.* 2001. Vol. 43, N 2. P. 155–160.

Yu I. T., Rhee J. S., Raisuddin S., Lee J. S. Characterization of the glutathione S-transferase-Mu (GSTM) gene sequence and its expression in the hermaphroditic fish, *Kryptolebias marmoratus* as a function of development, gender type and chemical exposure // *Chem. Biol. Interact.* 2008. Vol. 174, N 2. P. 118–125.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Борвинская Екатерина Витальевна

стажер-исследователь
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: katsu@inbox.ru
тел. (8142) 571819

Borvinskaya, Ekaterina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: katsu@inbox.ru
tel. (8142) 571819

Смирнов Лев Павлович

ведущий научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: leo@bio.krc.karelia.ru
тел. (8142) 571819

Немова Нина Николаевна

директор ИБ КарНЦ РАН, зав. лаб. экологической
биохимии, д. б. н., проф., чл.-корр. РАН
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nemova@krc.karelia.ru
тел. (8142) 783615

Smirnov, Lev

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: leo@bio.krc.karelia.ru
tel. (8142) 571819

Nemova, Nina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nemova@krc.karelia.ru
tel. (8142) 783615

УДК 591.111.1: 599

О НЕКОТОРЫХ ФАКТОРАХ, ВЛИЯЮЩИХ НА ВНУТРИ- И МЕЖВИДОВУЮ ГЕМОЛИТИЧЕСКУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

**А. Г. Борисова¹, Т. Н. Ильина¹, С. Н. Калинина¹,
И. В. Баишникова¹, Л. Б. Узенбаева¹, В. А. Илюха^{1,2}**

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН

² Петрозаводский государственный университет

Изучали зависимость гемолитической устойчивости эритроцитов у разводимых в неволе хищных млекопитающих (норка, лисица и песец) от состояния антиоксидантов и микроокружения (лейкоциты). Оценивали меж- и внутривидовые (на песцах) особенности термогемолита эритроцитов. В ходе исследования было выявлено, что увеличение количества лейкоцитов и нейтрофилов сопровождается снижением, а повышение активности супероксиддисмутазы (СОД) в клетках и уровня токоферола в плазме крови увеличением гемолитической устойчивости эритроцитов у изученных видов хищных млекопитающих. Показана возможность применения оценки термоустойчивости эритроцитов для тестирования их функционального состояния.

Ключевые слова: активные формы кислорода, антиоксидантная система, гемолитическая стабильность, эритроциты.

**A. G. Borisova, T. N. Ilyina, S. N. Kalinina, I. V. Baishnikova,
L. B. Uzenbaeva, V. A. Ilyukha. ON SEVERAL FACTORS INFLUENCING
INTRA- AND INTER-SPECIES HAEMOLYTIC STABILITY OF ERYTHROCYTES
IN MAMMALS**

Dependence of haemolytic stability of erythrocytes on antioxidant level and the microenvironment was studied in farm-reared carnivorous mammals (mink, red fox, arctic fox). Inter- and intraspecific (arctic fox) patterns in erythrocytes' thermohemolysis were determined. The results obtained suggest that increased leukocyte and neutrophil quantities lead to a decrease in erythrocytes' haemolytic stability, whereas increased SOD activity and elevated tocopherol level lead to increased stability. It is demonstrated that heat resistance of erythrocytes can be used in assessment of their functional state.

Key words: active forms of oxygen, antioxidant system, hemolytic stability, erythrocytes.

Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) мембран, богатая кислородом окружающая среда, а также гемоглобин делают эритроциты очень чувствительными к перекисно-повреждению. Инициировать его способны

активные формы кислорода (АФК), в частности, супероксидный анион-радикал, который может генерироваться клетками как эндогенно (в ходе нормального перехода оксигемоглобина в метгемоглобин), так и из экзогенных источни-

ков (лекарства, активированные нейтрофилы) [Misra, Fridovich, 1972]. Его ферментативная или спонтанная дисмутация приводит к образованию перекиси водорода, взаимодействие которой с супероксидным анион-радикалом приводит к образованию высоко реакционноспособного гидроксильного радикала в реакции Хабера-Вейса или Фентона. Также АФК способны непосредственно взаимодействовать с мембраной эритроцитов и вызывать нарушения как в липидном бислое, так и в структуре мембранных белков, что в конечном счете приводит к гемолизу. Несмотря на то, что эритроциты уязвимы к окислительным повреждениям, в норме они устойчивы к перекисному окислению липидов (ПОЛ), что связано со структурной компартментализацией, а также с наличием низкомолекулярных и ферментативных антиоксидантов. Различные компоненты антиоксидантной системы (АОС), с которой обычно связывают гемолитическую устойчивость эритроцитов, отвечают за детоксикацию АФК и за восстановление поврежденных ими биомолекул. Так, например, супероксиддисмутаза (СОД) катализирует превращение супероксидного анион-радикала в перекись водорода, которая затем разрушается каталазой или сопряженной системой глутатионпероксидазы – глутатионредуктазы. Эти два фермента превращают перекись в воду в присутствии НАДФН, используя глутатион в качестве донора электронов. Регенерация НАДФ в эритроцитах происходит благодаря гексозомонофосфатному шунту. Помимо антиоксидантных ферментов защиту от АФК обеспечивают низкомолекулярные антиокислители клеточной мембраны, главным и наиболее изученным из которых является витамин Е.

Устойчивость эритроцитов к гемолизу является интегральным показателем, характеризующим их целостность и жизнеспособность, а также критерием их физиологического состояния. Значительное количество работ по изучению влияния различных факторов на гемолитическую устойчивость эритроцитов проведено на лабораторных животных и человеке. В то же время информации о совместном действии комплекса факторов на защитные системы эритроцитов недостаточно. Целью нашего исследования явилось изучение зависимости гемолитической устойчивости эритроцитов у разводимых в неволе хищных млекопитающих от состояния АОС и микроокружения (лейкоциты).

Материал и методы

Объектами исследования являлись хищные млекопитающие – песец *Alopex lagopus* L. (сем.

Canidae), лисица *Vulpes vulpes* L. (сем. *Canidae*) и норка *Neovison vison* Shr. (сем. *Mustelidae*), содержавшиеся на ферме в стандартных условиях. Всего исследовано 99 песцов, 10 норок и 9 лисиц. Для оценки межвидовых особенностей сравнивали одновозрастных животных этих видов в сентябре, а при определении внутривидовых различий использовали песцов разного возраста (от 35 дней до 7 лет), а также песцов одного пола и возраста в различные биологические периоды (физиологический покой, беременность, лактация).

Кровь для анализа у норок получали после отсекания кончика хвоста, а у лисиц и песцов – из плантарной вены с использованием в качестве антикоагулянта гепарина [Берестов, 1971]. После центрифугирования при 3000 g отбирали 0,1 мл эритроцитов, гемолизировали в 0,9 мл 0,05 М фосфатного буфера (pH 7,0) и осаждали гемоглобин (с использованием 0,25 мл спирта и 0,15 мл хлороформа) в течение 10 мин на холоде. После центрифугирования при 6000 g в течение 10 мин в супернатанте производили определение активности СОД по модифицированной адренохромной методике [Misra, Fridovich, 1975], которую выражали в условных единицах на 100 мкл эритроцитов.

Определение концентрации α -токоферола в тканях проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [Скурихин, Двинская, 1989]. Хроматографическое разделение осуществляли на микроколоночном хроматографе с ультрафиолетовым детектором. Элюентом служила смесь гексана с изопропанолом. Для построения калибровочных кривых использовали стандартные растворы α -токоферола («Sigma», США).

Лейкоцитарную формулу, количество лейкоцитов и оценку других физиолого-биохимических показателей крови производили с помощью общепринятых методов [Берестов, 1971; Кост, 1975; Берестов, Кожевникова, 1981].

Термогемолиз изучали модифицированным нами равновесным методом [Ямайкина, Черницкий, 1989]. Суспензию клеток, находящуюся в фосфатно-солевом буфере, инкубировали при 58 °С в течение времени τ ; гемолиз оценивали спектрофотометрически по выходу гемоглобина в среду. По данным о степени гемолиза строили кинетические кривые, из которых вычисляли среднюю константу скорости реакции $k_{50} = 1/\tau_{50}$ (мин⁻¹), где τ_{50} – время лизиса 50 % клеток суспензии.

Достоверность различий между группами оценивали с использованием непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни и t-критерия Стьюдента [Зайцев, 1991].

Результаты и обсуждение

Морфологические особенности эритроцитов, их количество и насыщенность гемоглином являются видовой характеристикой и отражают экологические особенности и интенсивность метаболических процессов [Клиорин, Тиунов, 1974; Леонова, 1987]. В ходе онтогенеза у хищников наблюдается характерное и для других видов мле-

копитающих постепенное увеличение количества эритроцитов и уровня гемоглибина (рис. 1). За исключением раннего постнатального онтогенеза, когда происходит интенсивная элиминация эритроцитов, содержащих фетальный гемоглибин, наблюдается обратная зависимость между количеством эритроцитов и их устойчивостью к термогемолузу. При сравнении различных видов отмечается такая же зависимость.

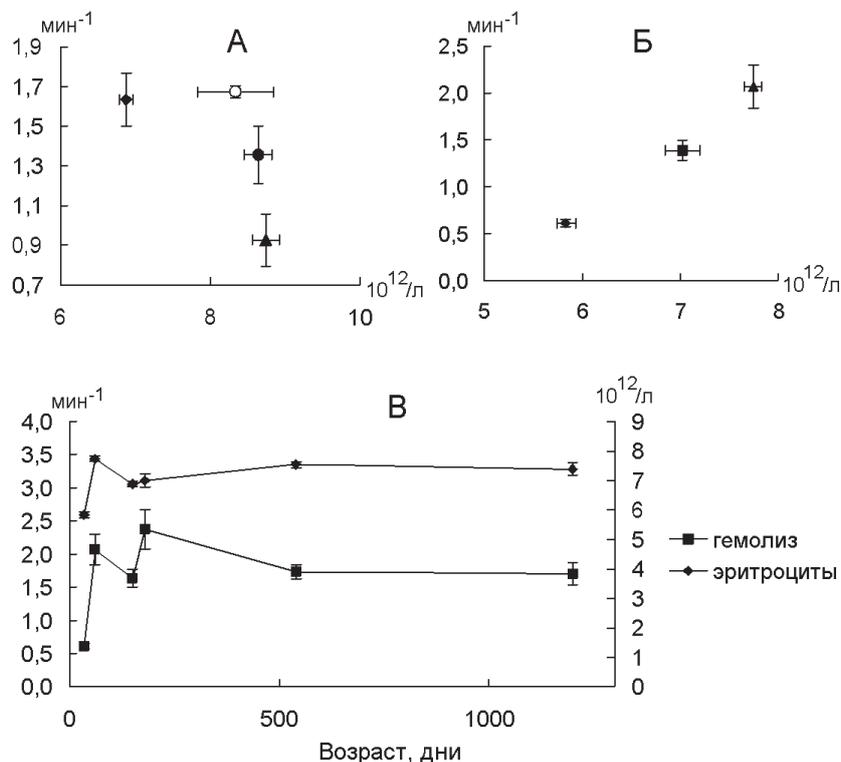


Рис. 1. Зависимость между гемолизом и количеством эритроцитов у разных видов (А), у молодых и старых песцов в период лактации (Б) и у песцов разного возраста без учета физиологического периода (В): здесь и на рис. 2–5: на рис. А: ◆ – песец, ▲ – лисица, ○ – серебристо-голубые норки, ● – норки деми-буфф; на рис. Б: ◆ – 35 дней, ▲ – 60 дней, ■ – 540 дней

Как отмечалось выше, переход оксигемоглибина в метгемоглибин сопровождается генерацией супероксидных анион-радикалов [Misra, Fridovich, 1972]. Активность метгемоглибинредуктазы – фермента, участвующего в протекании процесса восстановления метгемоглибина в гемоглибин, – широко варьирует между видами и с возрастом [Power et al., 2007]. Дети, в отличие от взрослых, более подвержены риску метгемоглобинемии, что связано с пониженной активностью метгемоглибинредуктазы в эритроцитах новорожденных и с усиленной тенденцией фетального гемоглибина переходить в более стабильные состояния.

Ранее нами было показано, что эритроциты позвоночных, содержащие менее подверженный автоокислению гемоглибин, имели большую те-

плоустойчивость, чем те, в которых гемоглибин окислялся легче [Борисова, 2008]. Высказано предположение о том, что АФК, образующиеся в каскаде реакций автоокисления, индуцируют процессы ПОЛ в мембранах, а также повреждают мембраносвязанные белки, что и приводит в итоге к гемолизу эритроцитов. Поскольку свободнорадикальное повреждение мембраны вызывает гемолиз, то повышенная чувствительность клеток к нему может говорить о слабости антиоксидантной защиты и/или о повышенном уровне ПОЛ в мембранах. Эксперименты по термогемолузу эритроцитов человека в интервале 52–58 °С, в которых гемоглибин был переведен в мет-состояние с помощью $NaNO_2$, показали, что такие клетки оказались менее устойчивыми, чем интактные [Борисова, Горюнов, 1997]. При окис-

лении гемоглобина в качестве промежуточного продукта выделяется перекись водорода, в эритроцитах параллельно происходят ПОЛ и глубокие изменения в структуре плазматической мембраны, что приводит к ее ускоренному лизису при повышении температуры.

У двух исследованных нами видов собак (песец, лисица) отмечается четкая зави-

симось: чем выше количество лейкоцитов, тем больше константа скорости гемолиза и, соответственно, ниже устойчивость эритроцитов (рис. 2). Эта же закономерность наблюдается и в ходе онтогенеза у песцов. Начиная с полуторалетнего возраста уровень гемолитической устойчивости и количество лейкоцитов стабилизируются на стационарном уровне.

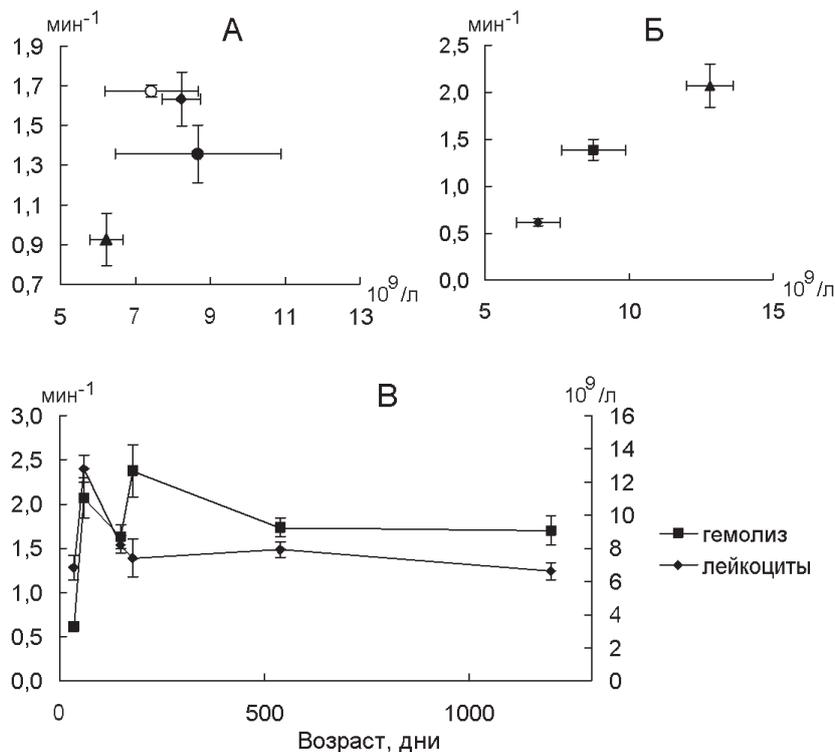


Рис. 2. Зависимость между гемолизом и количеством лейкоцитов у разных видов (А), у молодых и старых песцов в период лактации (Б) и у песцов разного возраста без учета физиологического периода (В)

При этом сравнительно-видовой анализ (рис. 3) показал, что различные типы лейкоцитов по-разному влияют на гемолитическую устойчивость эритроцитов. При более высоком относительном содержании лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов наблюдается снижение константы скорости гемолиза, в то время как увеличение относительной доли сегментоядерных нейтрофилов сопровождается ее увеличением. Аналогичная картина наблюдается и в отдельные периоды постнатального онтогенеза песцов (рис. 4).

Указанные зависимости могут быть связаны со способностью лейкоцитов, и особенно активированных, генерировать АФК, являющиеся экзогенными по отношению к эритроцитам и способными повреждать их мембрану извне. В более ранних исследованиях было показано, что при инкубации нормальных эритроцитов с активированными нейтрофилами в клетках на-

блюдается увеличение количества метгемоглобина и усиление гемолиза, которые тормозятся ловушками свободных радикалов [Weiss, 1980, 1982]. Каждый активированный форболмирилат ацетатом нейтрофил, генерирующий супероксидные анион-радикалы, способен вызвать лизис около 10 эритроцитарных мембран [Weiss, 1980]. Этот процесс тормозится экзогенной СОД. Нейтрофилы также могут генерировать перекись водорода, однако ни каталаза, ни глутатионпероксидаза, участвующие в обезвреживании перекиси водорода, не ингибируют гемолиз. Этот процесс предотвращается при конверсии гемоглобина в карбоксигемоглобин, но его превращение в метгемоглобин с помощью нитритов не влияет на опосредованный нейтрофилами гемолиз. При этом СОД, в отличие от каталазы, не защищает обработанные нитритом клетки, что свидетельствует о потенциальной роли перекиси водорода и

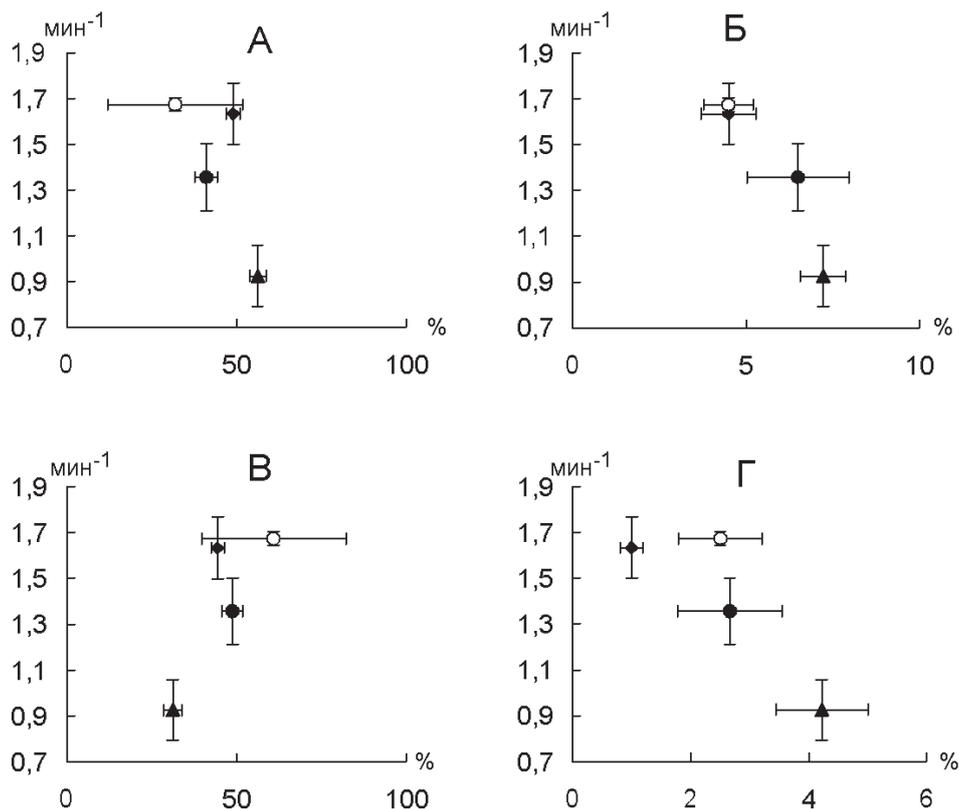


Рис. 3. Зависимость между гемолитическим процессом и относительным содержанием лимфоцитов (А), моноцитов (Б), сегментоядерных нейтрофилов (В) и эозинофилов (Г) у разных видов животных

метгемоглобина в цитотоксическом процессе. В качестве предполагаемого механизма авторы указывают на возможность взаимодействия выделяемого нейтрофилами супероксида и оксигемоглобина с образованием метгемоглобина и перекиси водорода, в результате чего формируется цитотоксический комплекс, приводящий к гемолиту эритроцитов.

В исследованиях *in vitro* [Claster et al., 1984] показано, что увеличение уровня ПОЛ в эритроцитах человека зависит от количества активированных нейтрофилов в инкубационной смеси, а СОД и каталаза частично предотвращают этот процесс. Перевод гемоглобина в карбоксигемоглобин увеличивает опосредованное активированными нейтрофилами ПОЛ, в то время как перевод в метгемоглобин снижает. Таким образом, гемоглобин может выступать в качестве электронной ловушки и защищать клетки от перекисного разрушения. Присутствие нейтрофилов, особенно активированных, может прямо или опосредованно влиять на деформируемость эритроцитов в цельной крови [Baskurt, Meiselman, 1998].

Важной особенностью перекиси водорода является ее способность свободно проникать через биологические мембраны. Как сравни-

тельно долгоживущая форма АФК, генерируемая лейкоцитами, она может проникать внутрь эритроцитов и там взаимодействовать как с гемоглобином, так и с супероксидным анион-радикалом. Однако основной мишенью перекиси водорода является эритроцитарная мембрана, в которой перед началом гемолита происходит разрушение фосфатидилэтаноламина [Jacob, Lux, 1968]. В то же время при перекисном гемолите не отмечается никаких изменений внутриклеточных компонентов или метаболизма.

Исследование протекторных свойств СОД и каталазы позволило установить ведущую роль перекиси водорода как первичного экстраклеточного источника окислительного стресса [Brownlee et al., 1977]. Показано, что образующиеся из перекиси водорода внутриклеточные гидроксильные радикалы также являются гемолитическими агентами, однако они не вызывают ПОЛ мембраны и образования метгемоглобина. Индуктором ПОЛ является синглетный кислород, который, как и гидроксильный радикал, может образовываться внутриклеточно при взаимодействии имеющегося здесь супероксидного анион-радикала и внеклеточной перекиси водорода.

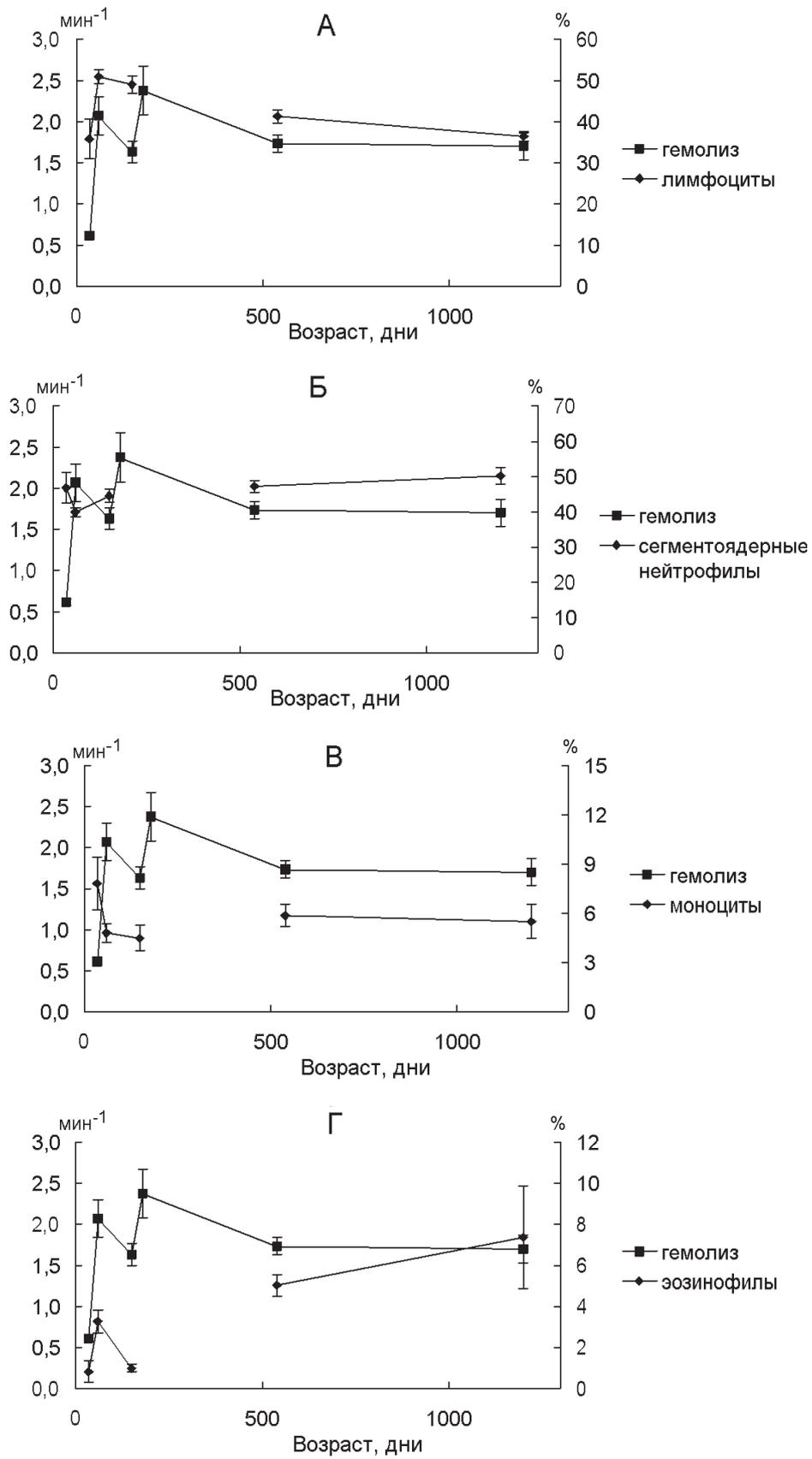


Рис. 4. Зависимость между гемолизом и относительным содержанием лимфоцитов (А), сегментоядерных нейтрофилов (Б), моноцитов (В) и эозинофилов (Г) у песцов разного возраста

Выше уже отмечалась важная роль генерируемых внутри клетки и экзогенных АФК в процессе гемолиза эритроцитов. Как на межвидовом уровне, так и для одного вида в ходе онтогенеза отмечается обратная зависимость между гемолитической устойчивостью эритроцитов и их обеспеченностью низкомолекулярными и ферментативными антиоксидантами. Так, пониженная активность СОД и низкое содержание витамина Е приводят к усилению разрушения эритроцитов при термогемолизе (рис. 5).

Поскольку отмечается четкая обратная зависимость между обеспеченностью организма млекопитающих токоферолом и гемолитической устойчивостью эритроцитов, гемолитический тест достаточно давно начали использовать для оценки обеспеченности токоферолом [Leonard, Losowsky, 1967].

Важно отметить, что в отличие от СОД, токоферол способен эффективно защищать эритроциты как от внутриклеточных, так и от экзогенных АФК. На перераспределение витамина

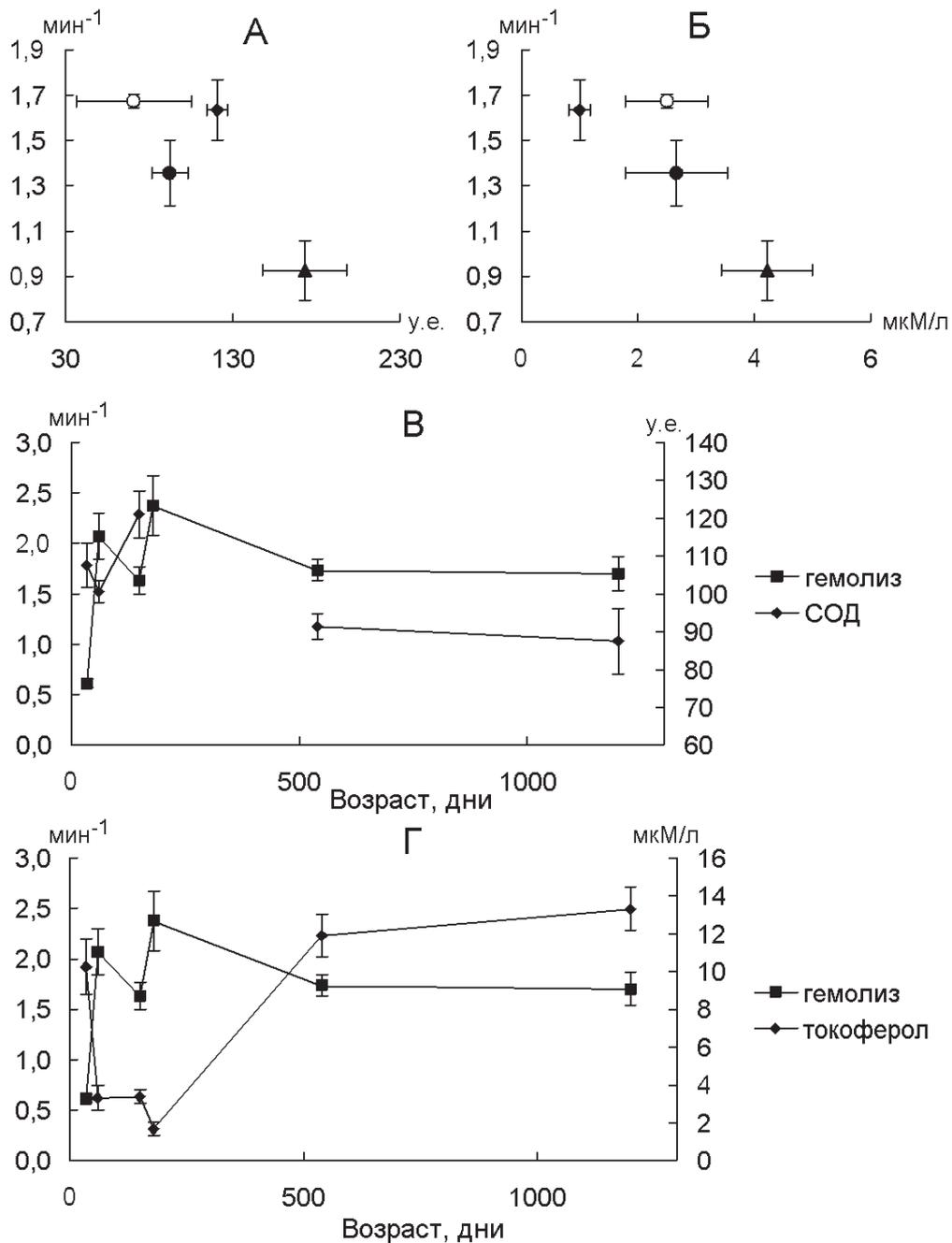


Рис. 5. Зависимость между гемолизом и состоянием АОС – активностью СОД (А) и уровнем токоферола (Б) у разных видов и у песцов разного возраста (В, Г)

Е между плазмой и эритроцитами влияет ряд факторов [Bieri et al., 1977]: чем выше гематокрит – тем выше уровень витамина в клетках; содержание токоферола в эритроцитах снижается при повышении концентрации липидов в клетках, но не зависит от концентрации самого витамина в плазме. Клетки способны накапливать витамин Е в количестве, четырехкратно превышающем его концентрацию в плазме. Следует отметить, что внеклеточная СОД составляет менее 5 % от регистрируемой внутри клетки, а в эритроцитах обнаруживается исключительно цитозольная форма фермента [Marklund et al., 1982; Kurata et al., 1993]. Кроме того, безъядерные эритроциты не способны к синтезу дополнительно необходимого им для защиты количества фермента.

Токоферол способен эффективно тормозить гемолиз эритроцитов [Bieri, Poukka, 1970]. Так, у крыс, по расчетам этих авторов, для уменьшения на 10 % гемолиза, вызванного диалуровой кислотой, необходимо присутствие одной молекулы α -токоферола на 1100 молекул ПНЖК. При этом наблюдается сигмоидная зависимость между концентрацией токоферола и степенью гемолиза: при увеличении концентрации витамина в плазме с 83 ± 15 $\mu\text{г}/100$ мл до 389 ± 46 $\mu\text{г}/100$ мл степень гемолитической устойчивости эритроцитов падает с 93 ± 3 до $8 \pm 5\%$. В эритроцитах плазмы крови крыс содержание витамина составляет около 45 % от наблюдаемого, тогда как у человека это соотношение значительно ниже. Установлено усиление гемолиза у крыс, дефицитных по витамину Е, по сравнению с нормально обеспеченными токоферолом [Brownlee et al., 1977]. У кроликов с экспериментальным дефицитом витамина Е потребление ПНЖК приводило к усилению гемолиза эритроцитов, вызванного диалуровой кислотой, перекисью водорода или использованием перекись-генерирующей системы на основе глюкозо-оксидазы [Horn et al., 1974]. Дефицит витамина и нагрузка восстановленным глутатионом также приводят к увеличению содержания в эритроцитах метгемоглобина. Витамин Е оказывает лишь незначительное влияние на процесс диффузии перекиси внутрь клетки, однако, несомненно, взаимодействует с различными АФК, возникающими из перекиси внутри клетки, и, таким образом, предотвращает ПОЛ и сульфгидрильных групп – процесс, инициирующий гемолиз.

Одним из важных моментов, влияющих на устойчивость эритроцитарных мембран, является способность токоферола модифицировать экстернизацию фосфатидилсерина у циркулирующих в крови эритроцитов, что изменяет и

их прокоагулянтные свойства [Klein et al., 2006]. Влияние витамина Е на устойчивость мембран может быть связано не только с его свойствами как антиоксиданта [Urano et al., 1992], но и с его способностью стабилизировать мембрану, взаимодействуя с метильными группами липидов и уменьшая подвижность мембраны.

Низкая активность антиоксидантных ферментов в некоторых случаях даже необходима для более быстрой смены эритроцитов. Так, в период раннего онтогенеза у млекопитающих происходит интенсивная элиминация клеток, содержащих фетальный гемоглобин [Леонова, 1987]. Однако высокая активность антиоксидантных ферментов или одного из них не является единственным и достаточным условием для высокой гемолитической устойчивости эритроцитов. У новорожденных телят [Imre et al., 2001], несмотря на высокую активность СОД в эритроцитах, наблюдается интенсивное автоокисление гемоглобина, накопление метгемоглобина и перекисей липидов, что приводит к нарушению реологических свойств, что, по мнению авторов, необходимо для более быстрой смены эритроцитов.

В выполненном на крысах исследовании [Oishi et al., 1999] по влиянию иммобилизационного стресса на гематологические показатели было выявлено значительное увеличение активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах с параллельным уменьшением общего количества клеток, что связывается авторами с увеличением количества АФК, генерируемых активированными моноцитами и нейтрофилами. Несмотря на увеличение активности СОД и каталазы в эритроцитах в процессе и после иммобилизационного стресса, в цельной крови активность ферментов не изменилась, что авторы связывают со значительным сокращением количества эритроцитов. Одним из возможных механизмов таких изменений является лизис эритроцитов, имеющих низкую активность антиоксидантных ферментов, в результате чего остаются только клетки с высокой активностью ферментов. Не исключена также возможность появления в кровотоке новых клеток, более защищенных с помощью ферментативных антиоксидантов.

Таким образом, сравнение особенностей термогемолиза у трех видов хищных млекопитающих и в ходе постнатального онтогенеза у песцов позволило выявить ряд зависимостей между гемолитической устойчивостью и другими параметрами крови – количеством эритроцитов и лейкоцитов, составом лейкоформулы и уровнем ферментативной и неферментативной антиоксидантной защиты клеток. Увеличение

количества лейкоцитов и нейтрофилов, основных источников АФК, сопровождается снижением, а повышение активности СОД в клетках и уровня токоферола в плазме крови – повышением гемолитической устойчивости эритроцитов. Обнаруженные закономерности соответствуют ранее выявленным при постановке модельных экспериментов. Различная температурная чувствительность клеток может быть следствием модификации физико-химических свойств мембраны, что отражает также практический аспект проблемы – возможность использования определения термоустойчивости эритроцитов для тестирования функционального состояния их и организма в целом, поскольку метод термогемолиза позволяет обнаруживать скрытые повреждения в эритроцитах.

Выводы

1. Сравнение особенностей термогемолиза у трех видов хищных млекопитающих (норка, лисица, песец) и в ходе постнатального онтогенеза у песцов позволило выявить зависимость гемолитической устойчивости эритроцитов от состояния АОС и микроокружения.

2. Выявлено, что увеличение количества лейкоцитов и нейтрофилов (основных источников АФК) сопровождается снижением гемолитической устойчивости эритроцитов.

3. Установлено, что повышение активности СОД в клетках и уровня токоферола в плазме крови увеличивает гемолитическую устойчивость эритроцитов у изученных видов хищных млекопитающих.

4. Различная температурная чувствительность клеток может быть следствием модификации физико-химических свойств мембраны.

5. Выявлена возможность применения оценки термоустойчивости эритроцитов для тестирования их функционального состояния.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Президента РФ НШ-306.2008.4.

Литература

Берестов В. А. Биохимия и морфология крови пушных зверей. Петрозаводск, 1971. 291 с.

Берестов В. А., Кожевникова Л. К. Ферменты крови пушных зверей. Л.: Наука, 1981. 184 с.

Борисова А. Г. Сравнительный анализ различных гемоглобинов: автоокисление и спектральные свойства // Журн. эволюц. биохим. и физиол. 2008. Т. 44, № 4. С. 449–450.

Борисова А. Г., Горюнов А. С. Термогемолиз эритроцитов, различающихся по сродству гемоглобина к кислороду // Журн. эволюц. биохим. и физиол. 1997. Т. 33, № 2. С. 142–147.

Зайцев Г. Н. Математический анализ биологических данных. М.: Наука, 1991. 184 с.

Клиорин А. И., Тиунов Л. А. Функциональная неравнозначность эритроцитов. Л.: Наука, 1974. 148 с.

Кост Е. А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. М.: Медицина, 1975. 383 с.

Леонова В. Г. Анализ эритроцитарной популяции в онтогенезе человека. Новосибирск: Наука, 1987. 210 с.

Скурихин В. Н., Двинская Л. М. Определение α -токоферола и ретинола в плазме крови сельскохозяйственных животных методом микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии // Сельскохозяйств. биол. 1989. № 4. С. 127–129.

Ямайкина И. В., Черницкий Е. А. Денатурация гемоглобина – первая стадия термогемолиза эритроцитов // Биофизика. 1989. Т. 34. С. 656–659.

Baskurt O. K., Meiselman H. J. Activated polymorphonuclear leukocytes affect red blood cell aggregability // J. Leukoc. Biol. 1998. Vol. 63. P. 89–93.

Bieri J. G., Evarts R. P., Thorp S. Factor affecting the exchange of tocopherol between red blood cells and plasma // Am. J. Clin. Nutr. 1977. Vol. 30. P. 686–690.

Bieri J. G., Poukka R. K. H. *In vitro* hemolysis as related to rat erythrocyte content of α -tocopherol and polyunsaturated fatty acids // J. Nutr. 1970. Vol. 100. P. 557–564.

Brownlee N. R., Huttner J. J., Panganamala R. V., Cornwell D. G. Role of vitamin E in glutathione-induced oxidant stress: methemoglobin, lipid peroxidation, and hemolysis // J. Lipid Res. 1977. Vol. 18. P. 635–644.

Claster S., Chiu D. T. Y., Quintanilha A., Lubin B. Neutrophils mediate lipid peroxidation in human red cells // Blood. 1984. Vol. 64. P. 1079–1084.

Horn L. R., Barker M. O., Reed G., Brin M. Studies on peroxidative hemolysis and erythrocyte fatty acids in the rabbit: effect of dietary PUFA and vitamin E // J. Nutr. 1974. Vol. 104. P. 192–201.

Imre S., Csornai M., Balazs M. High sensitivity to autoxidation in neonatal calf erythrocytes: possible mechanism of accelerated cell aging // Mech. Ageing Dev. 2001. Vol. 122. P. 69–76.

Jacob H. S., Lux S. E. Degradation of membrane phospholipids and thiols in peroxide hemolysis: studies in vitamin E deficiency // Blood. 1968. Vol. 32. P. 549–568.

Klein A., Deckert V., Schneider M. et al. α -Tocopherol modulates phosphatidylserine externalization in erythrocytes. Relevance in phospholipid transfer protein-deficient mice // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2006. Vol. 26. P. 2160–2167.

Kurata M., Suzuki M., Agar N. S. Antioxidant systems and erythrocyte life-span in mammals // Comp. Biochem. Physiol. 1993. Vol. 106B, N 3. P. 477–487.

Leonard P. J., Losowsky M. S. Relationship between plasma vitamin E level and peroxide hemolysis test in human subjects // Am. J. Clin. Nutr. 1967. Vol. 20, N 8. P. 795–798.

Marklund S. L., Hoime E., Hellner L. Superoxide dismutase in extracellular fluids // Clin. Chim. Acta. 1982. Vol. 126, N 1. P. 41–51.

Misra H., Fridovich I. The generation of superoxide radical during the autoxidation of hemoglobin // J. Biol. Chem. 1972. Vol. 247, N 21. P. 6960–6962.

Misra H., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase // J. Biol. Chem. 1975. Vol. 247. P. 3170–3175.

Oishi K., Yokoi M., Maekawa S. et al. Oxidative stress and haematological changes in immobilised rats // Acta Physiol. Scand. 1999. Vol. 165. P. 65–69.

Power G. G., Bragg S. L., Oshiro B. T. et al. A novel method of measuring reduction of nitrite-induced methemoglobin applied to fetal and adult blood of humans and sheep // J. Appl. Physiol. 2007. Vol. 103. P. 1359–1365.

Urano S., Inomori Y., Sugawara T. et al. Vitamin E: inhibition of retinol-induced hemolysis and membrane-stabilizing behavior // J. Biol. Chem. 1992. Vol. 267, N 26. P. 18365–18370.

Weiss S. J. The role of superoxide in the destruction of erythrocyte targets by human neutrophils // J. Biol. Chem. 1980. Vol. 255. P. 9912–9917.

Weiss S. J. Neutrophil-mediated methemoglobin formation in the erythrocyte. The role of superoxide and hydrogen peroxide // J. Biol. Chem. 1982. Vol. 257, N 6. P. 2947–2963.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Борисова Александра Григорьевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: borisova@krc.karelia.ru
тел. (8142) 765264

Ильина Татьяна Николаевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: tyutyunnik@krc.karelia.ru
тел. (8142) 573107

Калинина Светлана Николаевна

младший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: tyutyunnik@krc.karelia.ru
тел. (8142) 769810

Баишникова Ирина Валерьевна

младший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: tyutyunnik@krc.karelia.ru
тел. (8142) 769810

Узенбаева Людмила Борисовна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: tyutyunnik@krc.karelia.ru
тел. (8142) 573107

Илюха Виктор Александрович

зав. лаб. экологической физиологии животных, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: llyukha@krc.karelia.ru
тел. (8142) 573107

Borisova, Alexandra

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: borisova@krc.karelia.ru
tel. (8142) 765264

Ilyina, Tatyana

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: tyutyunnik@krc.karelia.ru
Tel. (8142) 573107

Kalinina, Svetlana

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: tyutyunnik@krc.karelia.ru
tel. (8142) 769810

Baishnikova, Irina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: tyutyunnik@krc.karelia.ru
tel. (8142) 769810

Uzenbaeva, Lyudmila

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: tyutyunnik@krc.karelia.ru
tel. (8142) 573107

Ilyukha, Victor

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: llyukha@krc.karelia.ru
tel. (8142) 573107

УДК 546.26 ≅ 54.3: 54-148: 577.352.3

МОРФОЛОГИЯ И АГРЕГАЦИЯ ЭРИТРОЦИТОВ В НАНОДИСПЕРСИЯХ УГЛЕРОДА

А. С. Горюнов¹, А. Г. Борисова¹, С. П. Рожков¹,
Г. А. Суханова¹, Н. Н. Рожкова²

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН

² Институт геологии Карельского научного центра РАН

Эффекты водных нанодисперсий шунгитового углерода в отношении морфологии и цитоархитектоники эритроцитов человека и норки исследовались методом сканирующей электронной микроскопии в образцах клеток, фиксированных глутаральдегидом с напылением углерода. Показано, что изменения формы эритроцитов в суспензии под действием нанодисперсного шунгитового углерода имели необратимый характер, тогда как изменения степени агрегации клеток были обратимыми и наблюдались только в присутствии наноуглерода. Обнаруженный эффект объясняется образованием комплексов наночастиц углерода с белками мембраны эритроцитов.

Ключевые слова: шунгитовый наноуглерод; наночастица; нанодисперсия; эритроцит; клеточная мембрана; белок; сканирующая электронная микроскопия.

**A. S. Goryunov, A. G. Borisova, S. P. Rozhkov, G. A. Sukhanova,
N. N. Rozhkova. MORPHOLOGY AND AGGREGATION OF ERYTHROCYTES
IN CARBON NANODISPERSIONS**

The effect of shungite carbon nanostructures on morphology and cytoarchitectonics of mink erythrocytes in samples representing cells treated with glutaraldehyde and then sprayed with carbon, has been studied using scanning electron microscopy. Changes in the shape of erythrocytes on addition of shungite nanodispersion to the cell suspension and on further washing off of carbon nanoparticles appeared to be irreversible, whereas alterations in aggregation of erythrocytes were observed only in the presence of nanocarbon. The effect was assumed to be caused by formation of complexes of carbon nanoparticles with membrane proteins.

Key words: shungite nanocarbon; nanoparticles; nanodispersion; erythrocyte; cell membrane; protein; scanning electron microscopy.

Введение

Все более широкое использование наноматериалов, в том числе наночастиц и нанодисперсий, в производстве продукции бытового, гигиенического и промышленного назначения требует тщательной оценки возможных биологиче-

ских рисков [Bharali et al., 2005; Panessa-Warren et al., 2009]. Одной из наиболее распространенных тест-систем для характеристики действия биологически активных соединений на клеточном и субклеточном уровне остаются эритроциты. Цель настоящей работы состояла в обнаружении и характеристике эффектов нанострук-

тур шунгитового углерода (ШУ) в отношении морфологии и цитоархитектоники эритроцитов *in vitro* на примере клеток человека и норки.

Материал и методы

В качестве объектов исследований использовались эритроциты человека и американской норки (*Mustela Neovison*, ЗАО «Пряжинское», Республика Карелия). Для исследования влияния углеродных наночастиц на состояние клеточной мембраны в суспензии эритроцитов человека и норки *in vitro* вводились дисперсии шунгитового наноглерода в виде коллоидного раствора (ШК), приготовленного по методике Г. В. Андриевского [Andrievsky et al., 1995], разработанной для фуллеренов. Влияние нанодисперсий углерода на морфологию эритроцитов изучали в диапазоне концентраций наночастиц от 3 до 50 мкг/мл.

Эритроциты суспендировались в физиологическом растворе, содержащем наночастицы в различных концентрациях. Контрольные и исследуемые образцы инкубировались при комнатной температуре либо при повышенных температурах в течение определенного времени. Для исследования цитоархитектоники эритроцитов с помощью сканирующей электронной микроскопии препараты эритроцитов фиксировались в 1% растворе глутарового альдегида (Fluka) в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем препарат отмывался водой. Взвесь клеток, нанесенная на стеклянные пластинки, высушивалась на воздухе и напылялась углеродом. Препараты просматривались с помощью сканирующего электронного микроскопа T-Scan (Чехия) при увеличении 2000–2500. Для получения количественной характеристики распределения морфологических форм эритроцитов в каждом препарате подсчет клеток проводился в процентах на 200–300 эритроцитов, среди которых выявлялись отдельные формы.

Для оценки формы клеток использовалась классификация Г. И. Козинца и соавт. [1977], согласно которой эритроциты здоровых доноров подразделяются на 10 типов. При этом дискоциты с одним или множественными выростами, дискоциты с гребнем, эритроциты в виде тутовой ягоды (эхиноциты) относят к обратимо деформированным, т. е. способным спонтанно восстанавливать свою форму, а куполообразные эритроциты, гладкие сфероциты, сфероциты с выростами и эритроциты в виде «спущенного мяча» (стоматоциты), а также дегенеративные формы принято считать необратимо деформированными, т. е. предгемолитическими формами.

Результаты и обсуждение

Эритроциты человека в нанодисперсии шунгитового углерода. На рис. 1 приведена микрофотография контрольного образца эритроцитов человека. Видно, что основная масса этих клеток представлена дискоцитами. Кроме дискоцитов были выявлены и иные присутствующие в норме известные формы эритроцитов – эхиноциты, стоматоциты и некоторые другие.

Ранее нами было показано, что количественное распределение отдельных морфологических форм красных клеток крови под влиянием дисперсии гидратированного фуллерена в концентрации 3–6 мкг/мл менялось в зависимости от времени инкубации клеток [Borisova et al., 2005]. Увеличение доли эхиноцитов в присутствии фуллеренов указывает на эхиноцитогенность последних. Вероятно, наночастицы фуллерена, будучи гидрофобными и отрицательно заряженными, вызывают увеличение отрицательного заряда во внешнем монослое мембраны, что приводит к изменению формы эритроцита. Кроме того, при взаимодействии с мембраной эритроцита фуллерены, возможно, способны встраиваться в нее, перераспределяясь между внутренним и внешним монослоями, и вызывать структурные изменения мембраны. Повышение доли эхиноцитов, видимо, связано с тем, что частицы накапливаются преимущественно в наружном слое мембраны, тем самым расширяя его.

Водные дисперсии шунгитового углерода имеют средний радиус частиц по данным динамического светорассеяния 95 нм, просвечивающей электронной микроскопии и малоуглового нейтронного рассеяния – 10–100 нм, атомно-силовой микроскопии – 63 нм [Rozhkova et al., 2007]. Шунгитовый углерод можно рассматривать как наномасштабную двухуровневую структуру с фуллереноподобными элементами размером в десятки и сотни нанометров, покрытую базовыми элементами 0,5 нм (так называемые «чашки») [Рожкова и др., 2005]. Эти структуры образуют трехмерную сетку из наночастиц углерода в результате их метаморфизма в водной среде.

Полученные данные позволяют предполагать, что наночастицы углерода с различной эффективностью способны вызывать трансформацию части эритроцитов из дискоидной формы в клетки с наружными выростами либо в стоматоциты. Данные рис. 1 и табл. 1 свидетельствуют о том, что в концентрации 3 и 7 мкг/мл ШК лишь незначительно влиял на форму клеток после инкубации в течение 30 мин при комнатной температуре.

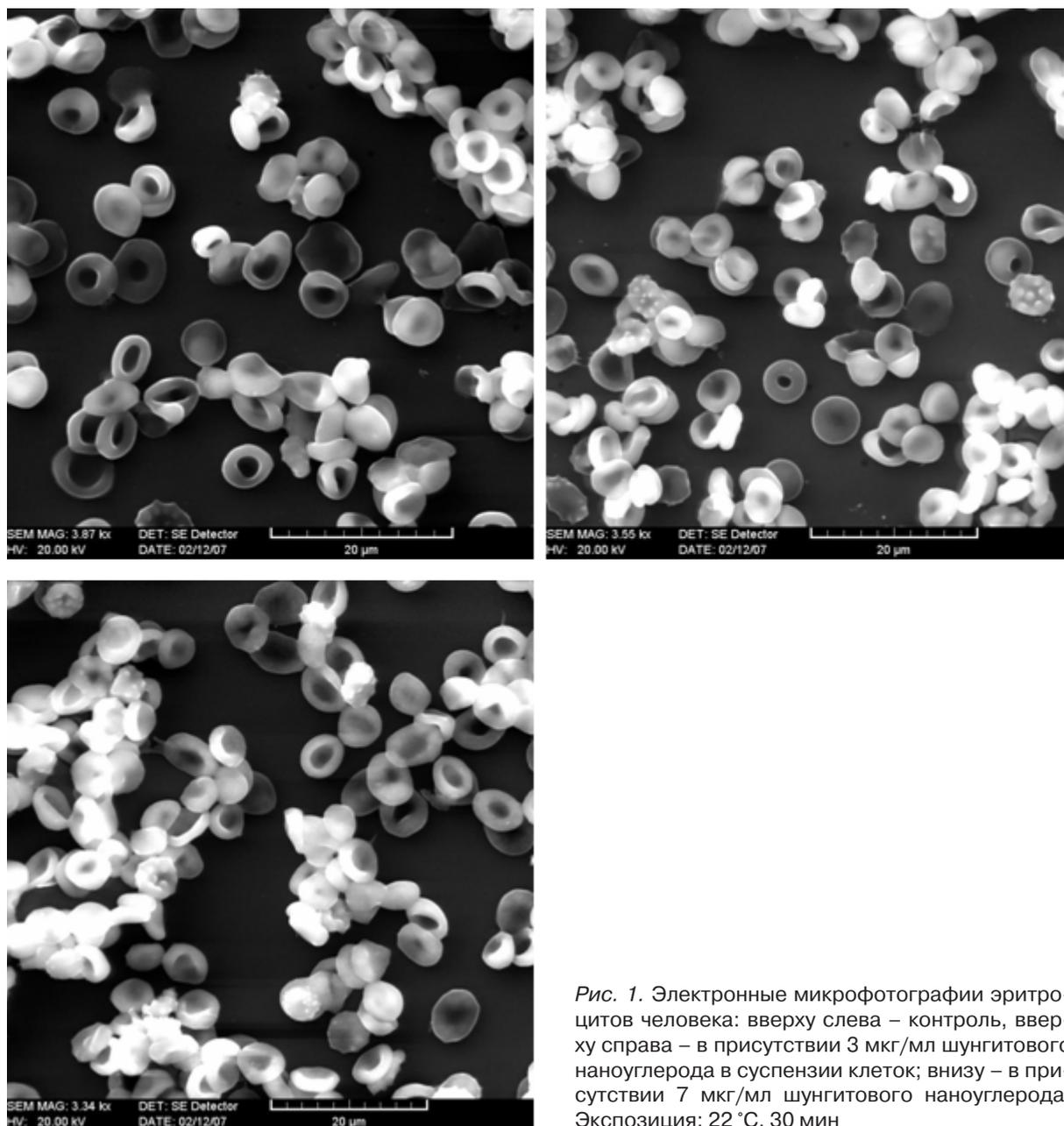


Рис. 1. Электронные микрофотографии эритроцитов человека: вверху слева – контроль, вверху справа – в присутствии 3 мкг/мл шунгитового наноуглерода в суспензии клеток; внизу – в присутствии 7 мкг/мл шунгитового наноуглерода. Экспозиция: 22 °С, 30 мин

Таблица 1. Морфологический состав эритроцитов человека (%) в зависимости от концентрации наночастиц шунгитового углерода (экспозиции: 30 мин, 22 °С)

Формы эритроцитов	Контроль	3 мкг/мл ШН	7 мкг/мл ШН
Дискоциты	68,5 ± 0,2	68,4 ± 0,2	67,3 ± 0,2
Со множественными выростами + ребристые	9,6 ± 0,1	10,9 ± 0,1	12,9 ± 0,1
Стоматоциты + куполообразные	9,7 ± 0,1	11,0 ± 0,1	9,6 ± 0,1
Эхиноциты	1,7 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,2
Вытянутые и плоские	10,5 ± 0,1	9,2 ± 0,1	9,7 ± 0,1

Примечание. Здесь и в табл. 2–3: ШН – шунгитовый наноуглерод.

Заметна тенденция к увеличению доли клеток со множественными выростами в зависимости от концентрации шунгитового коллоида. Доля эхиноцитов при этом существенно снижалась. Очевидно, ШК в отличие от фуллерена не проявляет эхиноцитогенности.

Вероятно, наночастицы шунгитового углерода могут оказывать опосредованное действие. Будучи также гидрофобными и имея в своем составе базовый структурный элемент, несущий дипольный момент, при сближении с мембраной они могут с ней взаимодействовать, вызывая перераспределение липидов вдоль мембраны и структурные изменения. Появление множественных выростов может быть следствием накопления частиц преимущественно у

наружного слоя мембраны и сопутствующего ему растяжения.

Микроизображения (рис. 1) позволяют также обнаружить другую важную тенденцию изменения состояния эритроцитов в присутствии углеродных наночастиц. Видно, что в образцах, содержащих ШК, значительно более выражена агрегация дискоцитов. В образце с 7 мкг/мл ШК почти все клетки находятся в составе более или менее крупных скоплений. Эти агрегаты не представляют собой обычные для эритроцитов в кровяном русле комплексы – «монетные столбики», т. е. не являются физиологическими агрегатами. Они имеют вид гроздьев, и у них отсутствует определенная структура. Таким образом, этот результат показывает, что введение ШК в суспензию дискоцитов человека вызывает агрегацию клеток по типу скупивания.

В экспериментах по влиянию повышенных температур и концентраций ШК на цитоархитектуру эритроцитов в суспензию клеток добавляли 50 мкг/мл ШК, инкубировали при температурах 34, 37, 40, 43 и 47 °С также в течение 30 мин, затем образцы фиксировали в растворе 1% глутарового альдегида и дальнейшие процедуры проводили, как описано выше. Результаты эксперимента представлены в табл. 2. На рис. 2 представлены микрофотографии эритроцитов при 37 и 47 °С. Эти данные показывают, что при нагреве суспензии клеток соотношение различных форм эритроцитов меняется как в контроле, так и в присутствии ШК. Так, в интервале 34–43 °С доля дискоцитов несколько возрастает, а затем при повышении температуры до 47 °С существенно снижается (рис. 2). Доля дискоцитов со множественными выростами и ребристых, а также эхиноцитов в интервале 34–43 °С снижается, а затем в интервале 43–47 °С резко возрастает (рис. 2). Известно, что при 43 °С наблюдается термоиндуцированный структурный переход в комплексе белков спектин-актин цитоскелета эритро-

цита. Состояние спектринового цитоскелета определяет цитоархитектуру эритроцита и, в свою очередь, форму клетки. В связи с этим полученные данные можно считать прямым указанием на то, что температурные изменения морфологии эритроцитов в диапазоне 34–47 °С обусловлены структурными термопереходами денатурационного характера белков цитоскелета эритроцита.

В результате исследования изменений цитоархитектуры эритроцитов в зависимости от температуры, начиная с диапазона 37–39 °С, обнаружено резкое уменьшение содержания дискоцитов (от $90 \pm 5\%$ до $65 \pm 2\%$ при 47 °С) и увеличение числа других форм эритроцитов, среди которых доминировали эритроциты со множественными выростами (рост с 4%, соответственно, при температурах до 39 °С до 16% при температуре 47 °С). В присутствии ШК (50 мкг/мл) изменений в пропорциях различных форм при соответствующих температурах по сравнению с контролем не отмечено, за исключением эхиноцитов, доля которых в контроле возросла с 1 до 7% в диапазоне 39–47 °С, а в присутствии ШК осталась прежней в этом же температурном интервале. В интервале 34–38 °С доля дискоцитов была больше в суспензии, содержащей 50 мкг/мл ШК. Выше 43 °С наблюдался существенный рост количества эритроцитов со множественными выростами и куполообразных клеток, при этом число дискоцитов снижалось. Присутствие 50 мкг/мл ШК в суспензии практически не влияло на направленность этих изменений, но, тем не менее, можно обнаружить возрастание доли эритроцитов со множественными выростами с 1 до 6%, а также уменьшение доли куполообразных клеток до 4,8% при 37 °С по сравнению с контролем (8,5%) при 37 °С (табл. 2). В контроле максимальная доля стоматоцитов и куполообразных клеток наблюдалась при 37 °С, при дальнейшем нагреве она снижалась, но была заметно выше, чем при 34 °С.

Таблица 2. Морфологический состав эритроцитов человека (%) в присутствии шунгитового нанокремнезема в зависимости от температуры (экспозиция: 30 мин)

Формы эритроцитов	Контроль					50 мкг/мл ШК				
	Температура, °С									
	34	37	40	43	47	34	37	40	43	47
Дискоциты ($\pm 0,2$)	71,4	77,4	81,1	80,1	60,0	78,0	82,0	76,0	85,1	62,7
Дискоциты со множественными выростами + ребристые ($\pm 0,3$)	12,5	1,6	2,7	3,7	19,6	8,7	7,0	4,4	2,9	16,9
Эхиноциты ($\pm 0,2$)	0,5	0,2	0	0,7	7,1	1,2	0	0,6	0,5	5,3
Вытянутые + плоские ($\pm 0,1$)	10,1	4,8	6,0	4,8	2,5	7,9	4,4	5,6	5,2	3,0
Стоматоциты + куполообразные ($\pm 0,2$)	5,5	16	10,2	10,7	10,8	4,2	6,6	13,4	6,3	12,1

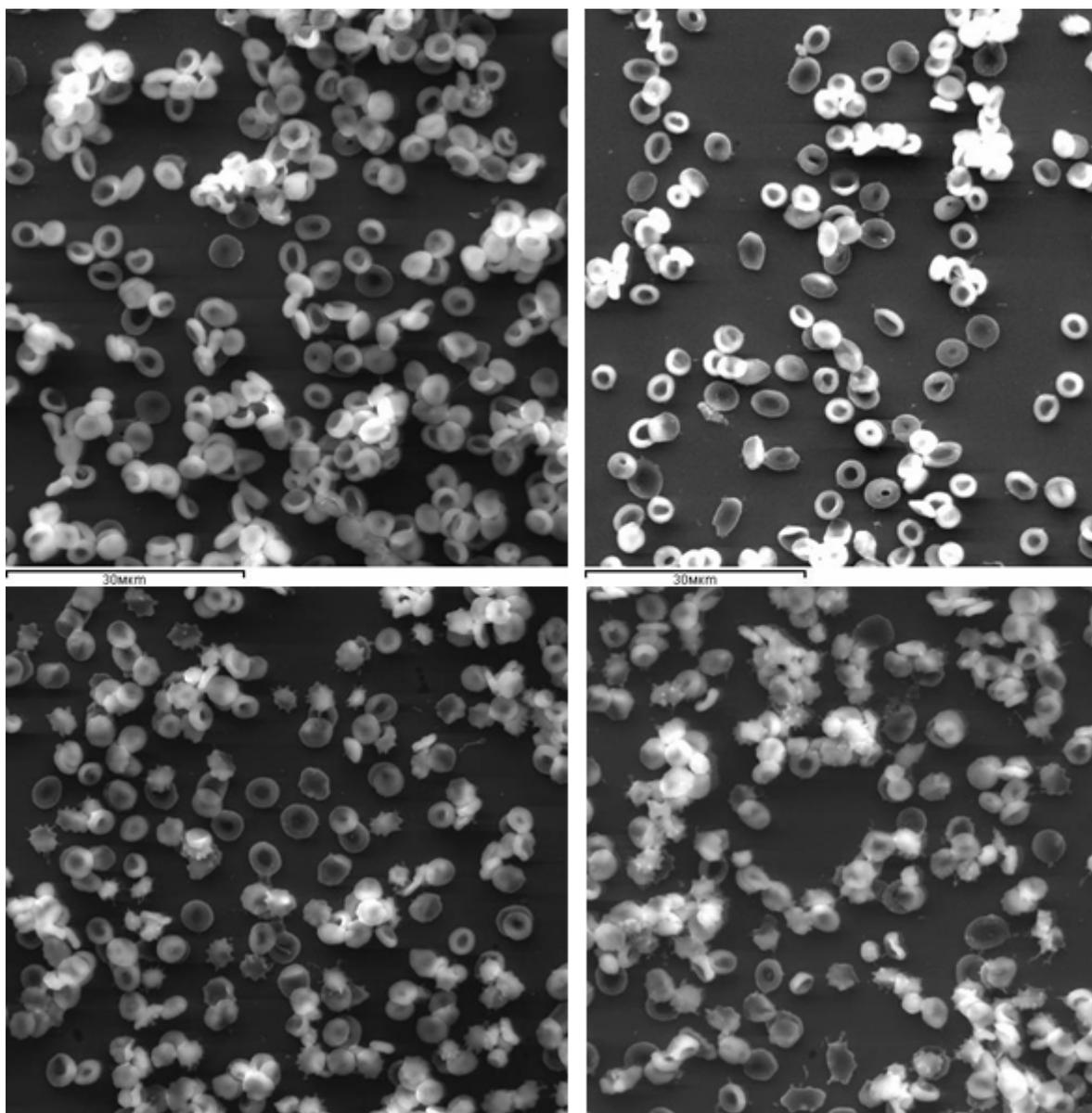


Рис. 2. Электронные микрофотографии эритроцитов человека: вверху слева – контроль при 37 °С; вверху справа – 50 мкг/мл шунгитового наноглерода в суспензии клеток при 37 °С; внизу слева – контроль при 47 °С; внизу справа – 50 мкг/мл шунгитового наноглерода при 47 °С. Экспозиция: 30 мин

Таким образом, характер изменений в соотношении различных форм красных клеток крови в температурном интервале 34–47 °С в присутствии наночастиц ШУ (концентрация 50 мкг/мл, выдерживали 30 мин) оставался практически одинаковым: с повышением температуры снижалась доля дискоцитов, увеличивалось количество эритроцитов со множественными выростами и куполообразных эритроцитов. Исключение составили эхиноциты (эритроциты в форме тутовой ягоды) – в контроле их доля значительно увеличивалась при температуре выше 43 °С, а в присутствии частиц ШУ практически не менялась в исследуемом температурном интервале.

Доля куполообразных клеток в контроле и в присутствии 50 мкг/мл ШК (табл. 2) возрастает в интервале 34–40 и 43–47 °С и резко снижается в интервале 40–43 °С. Это вновь указывает на то, что состояние спектринового цитоскелета и его термопереход при 43 °С существенным образом влияют на морфологию эритроцитов. Из табл. 2 также видно, что при температурах ниже 43 °С дискоциты являются абсолютно преобладающими по сравнению с остальными формами. При температурах выше 43 °С значительной становится доля эритроцитов со множественными выростами и ребристых, а также куполообразных клеток. Из рис. 2 следует, что при 37 °С введение ШК в суспензию сни-

жает агрегацию клеток, при 37 °С это главным образом дискоциты. При 47 °С, напротив, введение ШК приводит к усилению агрегации, в этом случае – разных форм.

Все это позволяет предположить, что наночастицы по-разному воздействуют на агрегацию клеток с различным структурным состоянием спектринового цитоскелета. Воздействие ШК на клетки с нативным актин-спектриновым комплексом (при физиологической температуре 37 °С) ослабляет их агрегацию. При повышенных температурах 47 °С, когда спекtrin денатурировал, ШК способствует агрегации клеток. Можно допустить, что влияние наночастиц различно также и в отношении разных форм: они ослабляют агрегацию дискоцитов, но способствуют агрегации эритроцитов с выростами. Поскольку известно, что форма эритроцитов в значительной степени зависит от жесткости белковой сети цитоскелета, то можно предположить, что определенные количественные различия в соотношении морфологических форм этих клеток в присутствии ШУ (в исследованном температурном интервале) могут быть связаны с влиянием наночастиц углерода на белок-белковые взаимодействия в цитоскелете.

Эритроциты норки в нанодисперсии шунгитового углерода. Суспензию эритроцитов норки инкубировали в течение 3 ч при комнатной температуре с 10 мкг/мл ШК. В результате доля дискоцитов несколько возростала, а число клеток со множественными выростами и куполообразных эритроцитов снижалось (табл. 3). Для выяснения степени обратимости изменений морфологии клетки отмывали от шунгитового коллоида физиологическим раствором (трехкратное центрифугирование при 3000 об/мин в течение 10 мин). Это приводило к значительному возрастанию доли куполообразных клеток – до 28 % (в контроле – 4 %) и плоских форм – до 13 % (против 4 % в контроле), т. е. изменения формы клеток оказались не только необратимыми, но и очевидно связанными с модификацией свойств мембраны: ее организации и/или проницаемости.

На рис. 3 представлены микрофотографии эритроцитов норки. Видно, что в исходной суспензии абсолютно преобладают дискоциты. Введение нанодисперсии ШК в суспензию клеток, как и в случае эритроцитов человека, приводит к образованию агрегатов из дискоцитов. Эти агрегаты тоже имеют вид скопленных, гроздьев, и у них отсутствует определенная структура. Видно также, что при отмывании клеток от ШК происходит дезагрегация. В от-

Таблица 3. Морфологический состав эритроцитов норки (%) под влиянием шунгитового наночуглерода (экспозиция: 3 ч, 22 °С)

Формы эритроцитов	Контроль	10 мкг/мл ШН	10 мкг/мл ШН (отмытые)
Дискоциты	75,6 ± 0,2	81,5 ± 0,2	56,6 ± 0,2
С одиночными и множественными выростами и с гребнем	14,2 ± 0,2	10,5 ± 0,2	0,3 ± 0,2
Стоматоциты + куполообразные	5,3 ± 0,1	2,6 ± 0,1	30,1 ± 0,1
Эхиноциты	0,5 ± 0,1	1,3 ± 0,1	0 ± 0,1
Плоские	4,4 ± 0,1	4,1 ± 0,1	13,0 ± 0,2

мытом состоянии после взаимодействия с нанодисперсией клетки изменяют свою форму: они представлены преимущественно стоматоцитами. Последние же образуют небольшое количество агрегатов уже физиологического типа, имеющих вид «монетных столбиков». Эти микроизображения эритроцитов норки позволяют обнаружить несколько новых обстоятельств. Во-первых, дезагрегация в результате отмывки означает, что агрегация под действием наночастиц обратима. Во-вторых, обратимость агрегации указывает на то, что взаимодействие наночастиц с клетками представляет собой непрочную физическую адсорбцию на поверхности и не состоит во встраивании в мембрану на уровне бислоя; иначе эффект не был бы таким нестойким, т. е. связывание наночастиц с клетками также обратимо. В-третьих, эффект, вероятно, не связан с таким явлением, как автоокисление гемоглобина, которое возможно в присутствии наночастиц как анти/прооксиданта, поскольку такое автоокисление необратимо.

Таким образом, воздействие наночастиц на поведение клеток состоит во влиянии на их агрегацию, так же как и в случае белковых макромолекул в растворе. Очевидно, и механизм воздействия состоит во влиянии на поверхностные белки эритроцитов, которые, агрегируя в присутствии наночастиц, вызывают и агрегацию самих клеток. Происходящие под действием молекул гидратированных углеродных наночастиц морфологические изменения эритроцитов, которые состоят в увеличении доли отличающихся устойчивостью к различным физико-химическим воздействиям деформированных форм, имели второстепенный характер. Исходя из приведенных данных можно полагать, что углеродные наночастицы способны значительно модифицировать состояние эритроцитов, причем проявление этого действия зависит от концентрации наночастиц и температуры, при которой инкубируются клетки.

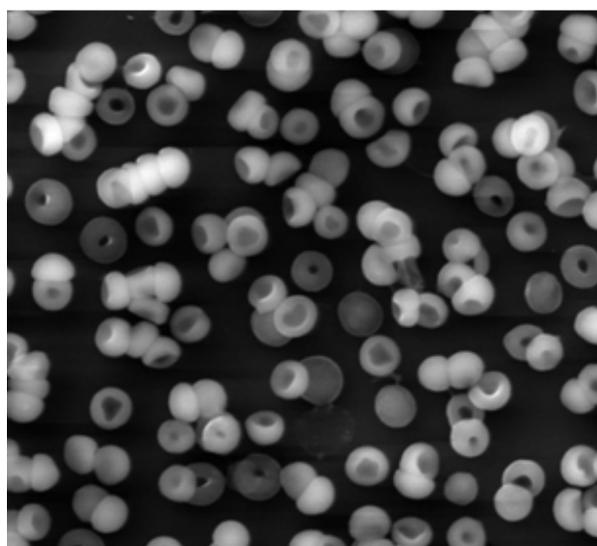
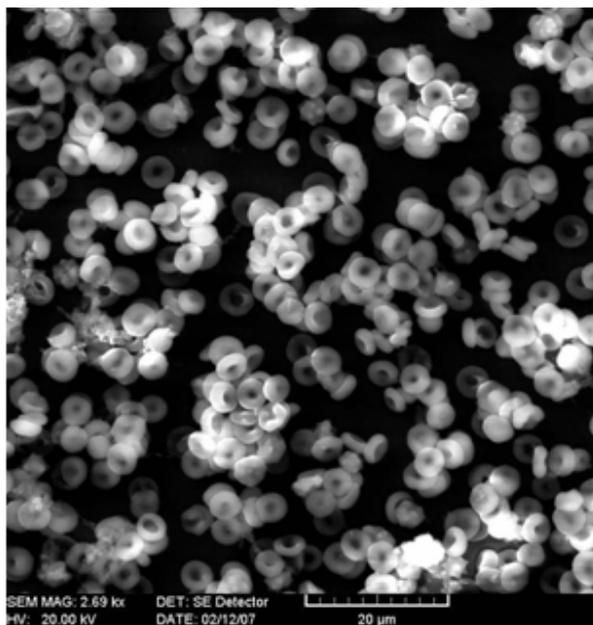
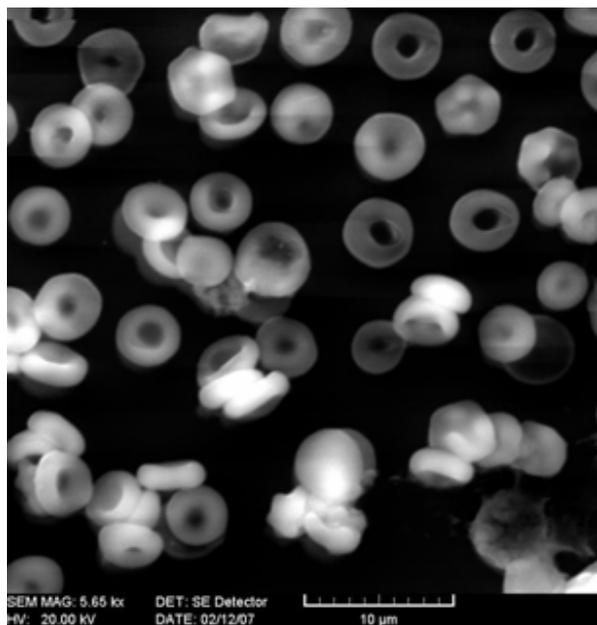


Рис. 3. Электронные микрофотографии эритроцитов норки: сверху слева – контроль; сверху справа – в присутствии 10 мкг/мл шунгитового наноуглерода в суспензии клеток; внизу – 10 мкг/мл шунгитового наноуглерода (после отмывания клеток от наноуглерода). Экспозиция: 22 °С, 3 ч

Авторы выражают глубокую благодарность сотрудникам Института геологии Карельского НЦ РАН А. Н. Терновому и А. Н. Сафронову за помощь в получении электронномикроскопических изображений.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 08-04-98825).

Литература

Козинец Г. И., Ряполова И. В., Шишканова З. Г. и др. Морфологическая характеристика эритроцитов периферической крови здоровых людей (сканирующая электронная микроскопия) // Проблемы гематологии и трансфузиологии. 1977. Т. 22, № 7. С. 19–21.

Рожкова Н. Н., Голубев Е. А., Сиклицкий В. И., Байдакова М. В. Структурная организация фуллереноподобного шунгитового углерода // Фуллерены и фуллереноподобные структуры / Ред. П. А. Витязь и др. Минск: ИТМО БАН, 2005. С. 100.

Andrievsky G. V., Kosevich M. V., Vovk O. M. et al. On the production of an aqueous colloidal solution of fullerenes // J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1995. Vol. 12. P. 1281–1282.

Bharali D. J., Klejbor I., Stachowiak E. K. et al. Organically modified silica nanoparticles: A nonviral vector for in vivo gene delivery and expression in the brain // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 2005. Vol. 102. P. 11539–11544.

Borisova A. G., Rozhkov S. P., Goryunov A. S. et al. The effect of hydrated fullerenes on erythrocyte membrane // Hydrogen Materials Science & Chemistry of Carbon Nanomaterials (ICHMS'2005): proceedings of IX International Conference (Sevastopol, Crimea, Ukraine, September 5–11, 2005). P. 946–947.

Panessa-Warren B. J., Maye M. M., Warren J. B., Crosson K. M. Single walled carbon nanotube reactivity and cytotoxicity following extended aqueous exposure // Environ Pollut. 2009. Vol. 157, N 4. P. 1140–1151.

Rozhkova N. N., Gribanov A. V., Khodorkovskii M. A. Water mediated modification of structure and physical chemical properties of nanocarbons // Diamond and Related Materials. 2007. Vol. 16. P. 2104–2108.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Горюнов Андрей Сергеевич

ведущий научный сотрудник, к. ф. -м. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: goryunov@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 765264

Борисова Александра Григорьевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: borisova@krc.karelia.ru
тел. (8142) 765264

Рожков Сергей Павлович

ведущий научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: rozhkov@krc.karelia.ru
тел. (8142) 765264

Суханова Галина Антоновна

главный физик
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sukhanova@krc.karelia.ru
тел. (8142) 765264

Рожкова Наталья Николаевна

зав. лаб. физико-химических исследований
наноуглеродных материалов, к. т. н.
Институт геологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: rozhkova@krc.karelia.ru
тел. (8142) 780189

Goryunov, Andrey

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: goryunov@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 765264

Borisova, Alexandra

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: borisova@krc.karelia.ru
tel. (8142) 765264

Rozhkov, Sergey

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: rozhkov@krc.karelia.ru
tel. (8142) 765264

Sukhanova, Galina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: sukhanova@krc.karelia.ru
tel. (8142) 765264

Rozhkova, Natalia

Institute of Geology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: rozhkova@krc.karelia.ru
tel. (8142) 780189

УДК 575.174.015.3+581.41

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЕВЕРНЫХ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH.

М. В. Грицких, Т. С. Николаевская, Л. В. Топчиева,
О. М. Федоренко

Институт биологии Карельского научного центра РАН

Проведена оценка уровня генетического и морфофизиологического разнообразия природных популяций *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., произрастающего в северной части его ареала (Карелия). Изучена варибельность 12 морфофизиологических признаков и 100 RAPD-локусов в двух островных и четырех континентальных популяциях. Выявлено не характерное для самоопыляющихся видов растений значительное генетическое разнообразие ($P = 45,96\%$; $H_{\text{exp}} = 0,138$). Показано, что на межпопуляционную изменчивость приходится немалая часть (39,4 %) общего генетического разнообразия, что является типичным для самоопылителей. Уровень внутривидового и межпопуляционного разнообразия морфофизиологических признаков также оказался достаточно высоким, причем наиболее существенны различия между группами континентальных и островных популяций. Предполагается, что высокий популяционный полиморфизм арабидопсиса в Карелии может быть связан с экстремальными условиями произрастания на северной границе ареала вида.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.; природные популяции; генетическое разнообразие; RAPD-маркеры; морфофизиологическое разнообразие.

М. V. Gritskikh, T. S. Nikolaevskaya, L. V. Topchieva, O. M. Fedorenko. GENETIC AND MORPHOPHYSIOLOGICAL FEATURES OF NATURAL NORTHERN POPULATIONS OF *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH.

In natural populations of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., occupying northern limits of the species range (Karelia), the level of genetic and morphophysiological diversity was evaluated. Variability of 12 morphophysiological quantitative traits and 100 RAPD loci was tested in two insular and four mainland populations. The considerable genetic diversity revealed ($P = 45.96\%$; $H_{\text{exp}} = 0.138$) was not typical of self-pollinating plant species. It was demonstrated that genetic differentiation among the populations was rather high (39.4 %), as expected of self-pollinating species. The level of within- and among-population variation of morphophysiological traits was high too, the most essential differences being between insular and mainland populations. It was suggested that the high level of *Arabidopsis* population polymorphism in Karelia could be associated with extreme growing conditions at the northern limits of the species range.

Key words: *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.; natural populations; genetic diversity; RAPD-markers; morphophysiological diversity.

Введение

Проблема биоразнообразия живой природы тесно связана с резервами внутривидовой изменчивости видов. Генетическое разнообразие природных популяций несет важный биологический смысл, являясь, с одной стороны, основой адаптивных и эволюционных изменений, а с другой – одним из важнейших механизмов их устойчивости.

Понимание генетических и экологических механизмов формирования внутривидового полиморфизма, распределение его внутри и между популяциями – одна из важнейших проблем, стоящих перед популяционной генетикой. Эти характеристики часто связаны с такими факторами, как величина ареала и система воспроизведения видов. Тип размножения вида является главной детерминантой в распределении генетической изменчивости внутри- и между популяциями [Allard et al., 1968] и, таким образом, влияет на большинство эволюционных процессов.

Для решения фундаментальных задач популяционной генетики наиболее информативны исследования, проводимые на модельных организмах. Одним из самых изученных объектов генетики растений является *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae). Это один из лучших объектов для исследований среди высших растений благодаря короткому жизненному циклу, малому размеру генома, высокой плодовитости, небольшому габитусу. Тем не менее о природных популяциях этого вида известно не так много.

Резушка Таля (*A. thaliana*) – высокосамофертильная модельная система. У таких видов уровень панмиксии и, соответственно, генетического разнообразия значительно снижен по сравнению с аутбредными видами, при этом большая часть его приходится на долю межпопуляционного разнообразия. Предполагается, что самоопыление снижает нуклеотидное разнообразие, по крайней мере, наполовину от величины, получаемой при случайном скрещивании, увеличивая, таким образом, относительную долю межпопуляционного разнообразия (F_{ST}) [Allard et al., 1968]. Тем не менее широкое распространение и процветание многих видов самоопыляющихся растений подтверждает устоявшееся к настоящему времени мнение, что они имеют свои оригинальные способы поддержания генетической гетерогенности. Отбор и ограничение рекомбинации у самоопылителей способствуют организации генотипа у них на основе коадаптированных комплексов генов [Weir et al., 1972; Животовский, 1984].

A. thaliana имеет обширный ареал распространения. Территория Карелии принадлежит к крайней северной границе ареала вида. Самые северные популяции обнаружены в Карелии на широте 62°54'. В таких приграничных районах популяции испытывают давление неблагоприятных для вида экологических условий. В результате селективных процессов происходят индуцированные сдвиги в распределениях аллельных частот за счет изменения приспособленностей генотипов и популяции приобретают генетическое своеобразие.

Ранее с использованием аллозимного анализа было показано, что континентальные карельские популяции арабидопсиса имеют повышенный ферментный полиморфизм [Федоренко и др., 2001]. В современном мире для изучения генетического разнообразия популяций широкое распространение получили молекулярно-генетические методы. Они дают более точные и объективные представления о генетической структуре популяций по сравнению с аллозимным анализом. Один из таких методов – метод полимеразной цепной реакции с участием произвольных праймеров (RAPD-анализ) позволяет выявлять полиморфные состояния в большом числе локусов, сканируя весь геном в целом, а также анализировать и некодирующие последовательности ДНК.

Северные условия произрастания растений на границе ареала вида являются жесткими и зачастую экстремальными (резкие колебания температур и пониженная инсоляция). Развитие растений в существенной степени зависит как от интенсивности, так и от качества световой энергии, что напрямую связано с широтой и климатическими условиями региона их распространения. Фотоморфогенез у высших растений включает процессы развития и дифференцировки, в том числе и оптимизацию структуры растений, обеспечивающей максимальное использование света в фотосинтезе. Под контролем генов фитохромов формируются морфофизиологические особенности растений, определяющие такие признаки, как прорастание семян, время цветения, количество розеточных листьев, удлинение генеративного побега, увеличение площади листа и другие. В связи с этим фенотипические особенности, сформировавшиеся в ходе эволюции у растений северных краевых популяций, являются характерными и отражают своеобразие генетической структуры.

Изолированные популяции арабидопсиса, произрастающие на островах Онежского озера, представляют собой удобную модель для изучения микроэволюционных процессов и возможных путей адаптивной эволюции.

Особенности этих процессов в островных популяциях (уменьшение скорости миграции генов, усиление роли дрейфа генов и др.) способствуют снижению уровня панмиксии и генетического разнообразия, изменению соотношения внутри- и межпопуляционных компонент разнообразия. Подобные исследования расширяют представления о значении потока генов в эволюции видов [Хедрик, 2005].

В этой связи целью нашей работы было изучить генетическую структуру двух островных и четырех континентальных природных популяций *Arabidopsis thaliana* (L.) с использованием RAPD-анализа и оценить особенности морфофизиологических признаков этих популяций.

Материал и методы

Семена арабидопсиса были собраны в шести популяциях во время экспедиции 2005 г. по Карелии. Популяции Радколье (62°00' с. ш., 35°11' в. д.) и Климецкий (61°49' с. ш., 35°10' в. д.) произрастают на островах Онежского озера. Остальные исследованные нами популяции – континентальные, названы в соответствии с близлежащими населенными пунктами: Шуйская (62°00' с. ш., 34°07' в. д.), Царевичи (62°01' с. ш., 34°07' в. д.), Косалма (62°01' с. ш., 34°07' в. д.) и Кончезеро (62°08' с. ш., 34°01' в. д.).

Собранные семена проращивали в чашках Петри на агаризованной питательной среде по Гихнеру-Велеминскому [Иванов и др., 1966] под люминесцентными лампами. Затем проростки пересаживали в почву (смесь земли и песка, 2 : 1) и выращивали при температуре 21 °С в люминостате. Анализировали по 30 растений, случайно выбранных из каждой популяции. Для изучения физиологических признаков – энергии прорастания и всхожести семян – семена проращивали в четырех повторностях в чашках Петри по 50 штук. Количество семян, взошедших на пятый день, составило энергию прорастания, а на десятый день – всхожесть семян. Учет морфологических признаков проводили по семьям: у четырех потомков каждого из 30 материнских растений измеряли диаметр розетки, количество розеточных листьев, длину и ширину листа, длину черешка, а также вычисляли индекс листа (отношение ширины к длине листа).

Выделение ДНК из листьев 30 взрослых растений каждой популяции (в вегетативной фазе) проводили по протоколу Мёллера с соавторами [Möller et al., 1992]. Полимеразную цепную реакцию осуществляли в термоциклере Robocycler® («Stratagene», США). Амплификация ДНК шла в реакционной смеси объемом 30 мкл, содержащей 2,5 мкл 10 × Taq буфера, 0,2 мМ каждого

dNTP, 1 ед. Taq полимеразы («Силекс», Россия), соответствующий праймер 100 пМ и 50 нг геномной ДНК. Для RAPD-анализа использовали следующие олигонуклеотидные праймеры («Синтол», Россия): № 2 (5'-GTGTCGAGTC-3'), № 4 (5'-AGGTCTGACG-3'), № 8 (5'-CGAGCCGATC-3'), № OPC-5 (5'-GATGACCGCC-3'), № P-01D (5'-AGCAGCGTTCG-3'). ПЦР проводили по следующей программе: первичная денатурация – 2 мин при 94 °С; далее 35 циклов: денатурация – 1 мин при 94 °С, отжиг – 40 с при 35 °С, синтез – 40 с при 72 °С; достраивание фрагментов – 10 мин при 72 °С. Продукты амплификации выявляли методом электрофореза в 2%-м агарозном геле в TBE буферном растворе с добавлением бромистого этидия и фотографировали в УФ-свете. Анализ молекулярной массы фрагментов осуществляли относительно маркера молекулярной массы (100 бп – 1 Kb) («Силекс», Россия).

Статистическую обработку полученных результатов проводили, используя стандартные подходы, принятые в популяционно-генетических исследованиях [Животовский, 1983], и пакеты программ POPGENE [Yeh, Boyle, 1997] и PHYLIP (<http://evolution.genetics.washington.edu>). Для определения частот фрагментов ДНК были составлены бинарные матрицы, в которых присутствие или отсутствие в спектре одинаковых фрагментов обозначали как «1» или «0». Для определения уровня генетического разнообразия популяций вычисляли показатели генетического разнообразия: долю полиморфных локусов при 95%-м критерии ($P_{95\%}$) и ожидаемую гетерозиготность (H_{exp}). Генетическую подразделенность характеризовали с помощью статистик генного разнообразия Нея [Nei, 1973]. Генетическую дифференциацию популяций определяли по коэффициентам генетического сходства (I_N) и генетической дистанции Нея (D_N) [Nei, 1972]. Кластерный анализ с формированием ветвей дендрограммы производили невзвешенным парно-групповым методом UPGMA (пакет программ PHYLIP).

Результаты и обсуждение

Анализ жизнеспособности и выживаемости растений (энергия прорастания и всхожесть) показал, что их значения колебались у изученных популяций в пределах 60–95 и 74–95 % соответственно. Это является достаточно высоким уровнем для природных популяций. Островные популяции по сравнению с континентальными отличались более высокой жизнеспособностью и выживаемостью растений, что характеризует более высокую их приспособленность (табл. 1).

Таблица 1. Изменчивость морфофизиологических признаков у растений природных (островных и континентальных) популяций *A. thaliana* (L.)

Морфофизиологические признаки	Популяции			
	Островные		Континентальные	
	$\bar{x} \pm s_x$	V	$\bar{x} \pm s_x$	V
Диаметр розетки, мм	70,25 ± 0,86	19,8	60,83 ± 0,79	18,18
Количество розеточных листьев	18 ± 0,31	18,81	19 ± 0,36	18,95
Длина листа, мм	25,68 ± 0,73	44,85	22,42 ± 0,39	24,51
Ширина листа, мм	10,11 ± 0,16	23,84	10,33 ± 0,15	20,01
Индекс листа	0,42 ± 0,01	20,79	0,48 ± 0,01	20,90
Длина черешка, мм	13,35 ± 0,23	26,85	10,55 ± 0,21	28,63
Высота растений, мм	109,61 ± 7,06	40,69	110,34 ± 6,87	40,22
Длина соцветия, мм	56,27 ± 4,39	49,32	57,04 ± 3,84	47,44
Длина стручка, мм	8,54 ± 0,24	24,93	9,03 ± 0,21	18,79
Плодовитость	22,98 ± 2,05	55,91	17,32 ± 1,58	54,74
Энергия прорастания семян, %	94,94 ± 0,84	9,62	73,69 ± 2,27	32,76
Всхожесть семян, %	95,96 ± 0,72	8,25	85,92 ± 1,52	19,11

Примечание. Плодовитость – количество стручков на одно растение.

Фенотипические особенности континентальных и островных популяций проявились в разной величине морфологических признаков. Выделены три группы признаков (табл. 1). В одной значения показателей у растений островных популяций выше, чем у континентальных. Это диаметр розетки, длина листа и черешка. Другая группа, наоборот, показывает большие значения показателей у континентальных (количество розеточных листьев и индекс листа). В третьей группе признаков те и другие популяции не различались (ширина листа, высота растений, длина соцветия и стручка). Сравнение отдельных популяций позволило выявить, что у двух континентальных популяций (Шуйская и Царевичи) величина морфологических признаков, как правило, меньше, чем у островных популяций (Климецкий и Радколье). В других континентальных популяциях (Косалма и Кончезеро) величина признаков была несколько больше или на том же уровне.

Континентальные популяции отличаются друг от друга почти по всем морфологическим признакам, однако популяции Шуйская и Царевичи наиболее схожи между собой. Растения островных популяций значительно отличались между собой лишь по трем признакам: диаметр розетки и длина листа (крупнее в популяции Климецкий), индекс листа (выше в популяции Радколье) (табл. 1). Возможно, выявленные различия по степени развития морфологических признаков связаны с микроклиматическими особенностями мест произрастания растений исследуемых популяций.

Уровень варьирования признаков во всех популяциях оказался высоким. Значения коэффициентов вариации находятся в пределах 13–29 %, за исключением популяции Царевичи, проявившей наибольший уровень варьирования (25 < V > 43 %).

Действие естественного отбора (стабилизирующая форма) на экспрессию морфофизиологических признаков, выраженное в виде отклонений их значений от средней арифметической, было одинаково сильным и в островных, и в континентальных популяциях. Исключение составила популяция Царевичи, где оно наименее выражено, вследствие того что здесь оказался высоким уровень фенотипического разнообразия изученных признаков (рис. 1). В этой популяции выявлен и высокий уровень отклонений развития (карликовость, многорозеточность, положительный геотропизм, этиолированные проростки, пигментные мутации, потенциальные летали).

Таким образом, в карельских природных популяциях арабидопсиса выявлен достаточно высокий уровень внутривидовой и межвидовой изменчивости морфофизиологических признаков, а также повышенное фенотипическое разнообразие в одной из континентальных популяций – Царевичи. Как представляется, формирование морфофизиологических признаков связано с особенностями экологических условий (световых и температурных) произрастания растений на северной границе ареала вида и условиями мест обитания (континентальные – островные).

В предварительных экспериментах на ДНК *A. thaliana* из 15 проанализированных праймеров было отобрано пять, позволяющих воспроизводить наиболее полиморфные RAPD-спектры в исследуемых популяциях. В результате были получены амплифицированные фрагменты ДНК, число которых варьировало от 18 до 22 на праймер и от 68 до 87 на популяцию. Популяции различались по относительному количеству полиморфных фрагментов ДНК ($P_{95\%}$) от 25,25 до 69,70 %. Достоверность различий популяций по частотам RAPD-фрагментов подтверждена статистически с помощью χ^2 -критерия ($\chi^2 = 521,96$, d.f. = 260, $p < 0,001$).

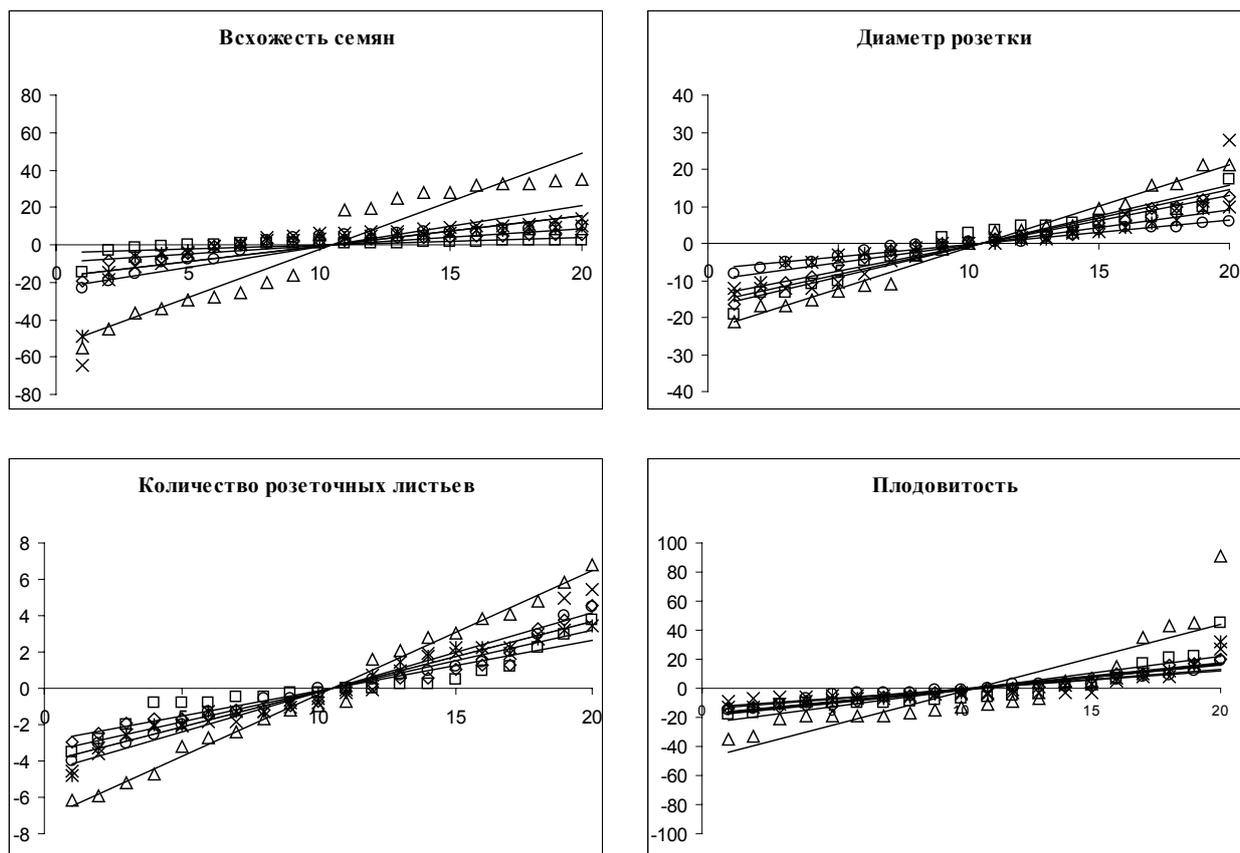


Рис. 1. Морфофизиологические признаки в популяциях *A. thaliana* в форме ранжированных отклонений от средней арифметической:

популяции: \diamond – Климецкий, \square – Радколье, Δ – Царевичи, \times – Шуйская, \circ – Косалма, $*$ – Кончезеро. По оси ординат – значения признаков, по оси абсцисс – количество исследованных образцов

В табл. 2 представлены значения показателей, характеризующих уровень генетического разнообразия проанализированных популяций. Карельские популяции показали значительный уровень генетического разнообразия, не свойственный самоопыляющимся видам растений. Средние популяционные характеристики инбредных видов растений, полученные с использованием аллозимного анализа, составили $P_{95\%} = 18,3\%$, $H_{obs} = 0,001$ [Gottlieb, 1981]. Правомерность подобных сравнений основана на анализе данных литературы [Torres et al., 2003; Артюкова и др., 2004], в которых показано, что аллозимный и RAPD-анализы дают сходные результаты в отношении генетической структуры и уровня генетического разнообразия популяций. Полученные данные согласуются с представлениями Левонтина о популяционно-генетической структуре краевых популяций. Он подчеркивал временную неустойчивость условий существования на периферии ареала, в связи с чем отбор благоприятствует разным генотипам и генетическое разнообразие поддерживается на высоком уровне [Левонтин, 1978].

Таблица 2. Показатели генетической изменчивости в карельских популяциях *A. thaliana*

Популяция	Количество полиморфных фрагментов	$P_{95\%}$, %	H_{exp}
Радколье	69	69,70	$0,214 \pm 0,019$
Климецкий	46	46,46	$0,152 \pm 0,019$
Царевичи	52	52,53	$0,161 \pm 0,018$
Шуйская	46	46,46	$0,144 \pm 0,019$
Косалма	35	35,35	$0,103 \pm 0,017$
Кончезеро	25	25,25	$0,052 \pm 0,012$
Среднее		45,96	$0,138 \pm 0,017$

Примечание. $P_{95\%}$ – доля полиморфных локусов при 95% критерии, H_{exp} – средняя ожидаемая гетерозиготность по всем локусам.

В среднем островные популяции оказались более полиморфными по сравнению с континентальными: доля полиморфных локусов составила 58,08 % и 39,89 %; ожидаемая гетерозиготность – 0,183 и 0,115 соответственно. Неожиданно высокое генное разнообразие было выявлено в островной популяции Радколье. Доля полиморфных локусов в этой популяции оказалась самой высокой из всех

исследованных популяций и составила 69,70 %; ожидаемая гетерозиготность (H_{exp}) также самая высокая – 0,214 (табл. 2). Повышенное разнообразие островных популяций не укладывается в традиционные представления о генетической структуре изолированных популяций, в которых важными факторами распределения частот аллелей являются изолированность и случайный дрейф генов. Ослабление миграционных процессов, дрейф генов и в некоторых случаях малая численность популяций способствуют снижению уровня генетического разнообразия и способны привести к формированию уникальных особенностей генофонда таких популяций [Хедрик, 2005]. По-видимому, природные условия настолько сложны и многогранны, что популяционно-генетические характеристики видов не всегда укладываются в рамки установленных закономерностей. Поэтому необходимо проведение независимого исследования каждого вида в конкретных условиях среды его обитания [Torres et al., 2003].

Остров Радколье небольшой (~0,5 га) и расположен вблизи побережья Заонежского полуострова. По всей вероятности, полной изоляции популяции Радколье нет. Остров характеризуется уникальными природными особенностями и образован скальным блоком с выходами коренных пород на поверхность и с широким распространением шунгитовых сланцев. В результате процессов выветривания такие породы обогащают почвы калием и различными микроэлементами, такими, как ванадий, молибден, медь, никель, бор, вольфрам, мышьяк, иногда кобальт и др. [Соколов, 1956]. Северо-восточный берег острова высотой 6–8 м, почти вертикально обрывается в озеро. Почвенный покров маломощный и сильнокаменистый. Наличие скальных обнажений и шунгитовых пород обусловили своеобразие микроклиматических и почвенных условий острова Радколье. Вероятно, вследствие этого флора здесь представлена очень большим числом видов растений – 125, в том числе целым рядом редких для территории Карелии видов [Кузнецов, 1993].

На основе частот RAPD-фрагментов ДНК определены значения генетического сходства (I_N) и генетических расстояний (D_N) ис-

следованных популяций по коэффициентам Нея [Nei, 1972]. Результаты вычислений представлены в табл. 3. Наибольшее генетическое сходство проявили две островные популяции Климецкий и Радколье: $I_N = 0,939$, $D_N = 0,080$. Существенное сходство у пары континентальных популяций Царевичи и Шуйская: $I_N = 0,924$, $D_N = 0,093$. Средняя генетическая идентичность между всеми парами популяций оказалась равной 0,898, а среднее генетическое расстояние – 0,128. Полученные данные согласуются с популяционными характеристиками генетической идентичности британских популяций арабидопсиса – $I_N = 0,897$ [Abbott, Gomes, 1989], однако ниже средних значений этого показателя для популяций самоопылителей: $I_N = 0,975$ [Gottlieb, 1981].

Для характеристики генетических взаимоотношений карельских популяций был проведен кластерный анализ методом UPGMA на основе значений дистанций Нея (D_N) (рис. 2). На дендрограмме четко выделяются два основных кластера. Популяции, проявившие наименьшее генетическое разнообразие – Косалма и Кончезеро, образуют самостоятельный кластер. Остальные популяции, группирующиеся вместе, в свою очередь подразделяются на два подкластера. Один из них включает две островные популяции, а другой – две континентальные. То, что островные популяции Радколье и Климецкий, имеющие наибольшую величину I_N , формируют отдельный кластер, свидетельствует о сходстве их генетической структуры. Таким образом, генетические различия северных природных популяций связаны, по-видимому, с условиями мест произрастания растений на островах и материке и, следовательно, с особенностями микроэволюционных процессов в них.

Оценка степени генной дифференциации внутри и между исследуемыми популяциями, произведенная с помощью статистик генного разнообразия Нея [Nei, 1973], показала, что распределение разнообразия внутри и между изученными популяциями типично для самоопылителей: на межпопуляционную изменчивость приходится значительная доля общего генетического разнообразия – 39,4 % (табл. 4).

Таблица 3. Генетическое сходство (I_N) и генетические расстояния (D_N) между карельскими популяциями *A. thaliana*

Популяция	Климецкий	Радколье	Царевичи	Шуйская	Косалма	Кончезеро
Климецкий	–	0,939	0,901	0,900	0,880	0,887
Радколье	0,080	–	0,905	0,925	0,894	0,897
Царевичи	0,130	0,123	–	0,924	0,862	0,874
Шуйская	0,130	0,095	0,093	–	0,872	0,903
Косалма	0,154	0,132	0,170	0,157	–	0,907
Кончезеро	0,142	0,126	0,154	0,117	0,110	–

Примечание. I_N – верхняя часть матрицы над диагональю, D_N – нижняя часть матрицы под диагональю.

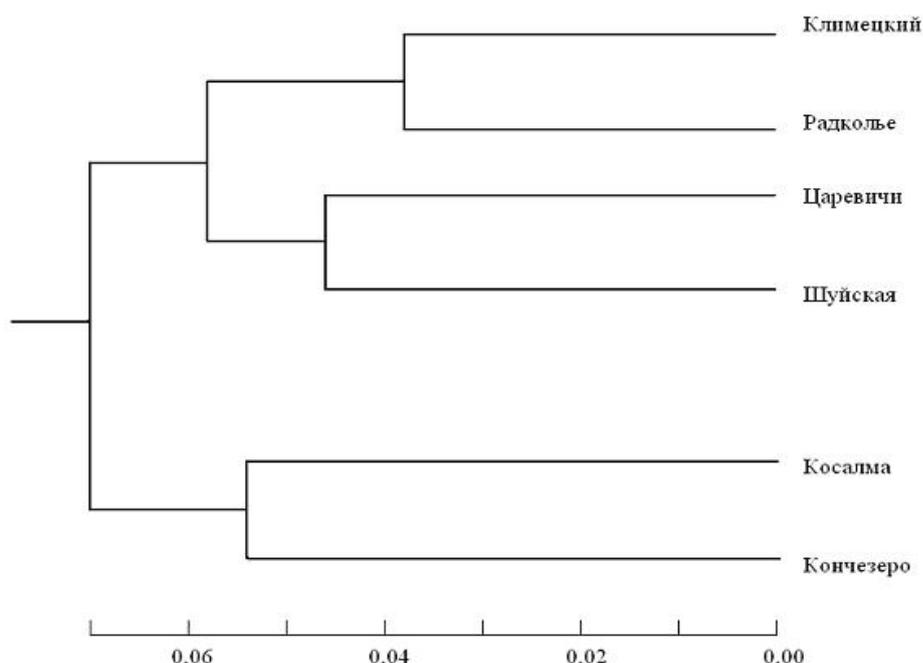


Рис. 2. Дендрограмма генетических различий северных природных популяций *A. thaliana*

Таблица 4. Показатели генного разнообразия (статистики Нея) в популяциях *A. thaliana*

Праймер	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}
2	0,218	0,098	0,119	0,548
4	0,177	0,104	0,073	0,413
8	0,239	0,165	0,074	0,310
OPC-5	0,249	0,147	0,102	0,410
P-01D	0,241	0,171	0,069	0,289
Среднее	0,225	0,137	0,087	0,394

Примечание. H_T – общее генное разнообразие, H_S – внутри-популяционное разнообразие, D_{ST} – генное разнообразие между популяциями, G_{ST} – относительная величина межпопуляционной дифференциации.

Таким образом, в северных природных популяциях *A. thaliana* выявлен высокий уровень генетического и морфофизиологического разнообразия, не характерный для самоопылителей. Предполагается, что высокий популяционный полиморфизм арабидопсиса в Карелии может быть связан с экстремальными условиями произрастания на северной границе ареала вида. Особенности микроэволюционных процессов в островных популяциях – ослабление миграционного потока генов, усиление роли дрейфа генов – обусловили своеобразие их генетической и морфофизиологической структуры.

Литература

Артюкова Е. В., Козыренко М. М., Корень О. Г. и др. RAPD- и аллозимный анализ генетической изменчивости *Panax ginseng* С. А. Meyer и *P. quinquefolius* L. // Генетика. 2004. Т. 40, № 2. С. 239–247. (Artyukhova E. V., Kozyrenko M. M., Koren' O. G. et al. RAPD and allozyme analysis of genetic diversity *Panax ginseng* С. А. Meyer и *P. quinquefolius* L. // Rus. J. Genetics. 2004. Т. 40, № 2. Р. 178–185.)

Животовский Л. А. Статистические методы анализа частот генов в природных популяциях // Итоги науки и техники. Общая генетика. М.: ВИНТИ, 1983. Т. 8. С. 76–104.

Животовский Л. А. Интеграция полигенных систем в популяциях. М.: Наука, 1984.

Иванов В. И., Касьяненко А. Г., Санина А. В., Тимофеева-Ресовская Е. А. Опыты по радиационной генетике *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Сообщ. I // Генетика. 1966. № 8. С. 55–70.

Кузнецов О. Л. Флора и растительность кижских шхер // Растительный мир Карелии и проблемы его охраны. Петрозаводск, 1993. С. 107–141.

Левонтин Р. С. Генетические основы эволюции. М.: Мир, 1978. 351 с.

Соколов В. А. Карельские агрономические труды. Петрозаводск: Гос. изд-во Карело-Финской ССР, 1956. С. 22–29.

Федоренко О. М., Савушкин А. И., Олимпиенко Г. С. Генетическое разнообразие природных популяций *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. в Карелии // Генетика. 2001. Т. 37, № 2. С. 223–229. (Fedorenko O. M., Savushkin A. I., Olimpienko G. S. Genetic diversity in natural populations of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. from Karelia // Rus. J. Genetics. 2001. Vol. 37, № 2. P. 162–167.)

Хедрик Ф. Генетика популяций. М.: Техносфера, 2005. 588 с.

Abbott R. J., Gomes M. F. Population genetic structure and outcrossing rate of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // Heredity. 1989. Vol. 62. Part 3. P. 411–418.

Allard R. W., Jain S. K., Workman P. The genetics of inbreeding species // Adv. Genetics. 1968. N 14. P. 55–131.

Gottlieb L. D. Electrophoretical evidence and plant populations // Prog. Phytcem. 1981. V. 7. P. 1–46.

Möller E. M., Bahnweg G., Sandermann H., Geiger H. H. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit

bodies, and infected plant tissues // Nucl. Acids Res. 1992. Vol. 20, N 22. P. 6115–6116.

Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Natur. 1972. Vol. 106. P. 283–292.

Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1973. Vol. 70. P. 3321–3323.

Torres E., Iriondo J. M., Perez C. Genetic structure of an endangered plant, *Antirrhinum microphyllum*

(Scrophulariaceae): allozyme and RAPD analysis // Amer. J. Bot. 2003. Vol. 90, N 1. P. 85–92.

Weir B. S., Allard R. W., Kahler A. L. Analysis of complex allozymes polymorphisms in barley population // Genetics. 1972. Vol. 72, N 3. P. 505–523.

Yeh F. C., Boyle T. J. B. Population genetic analysis of codominant and dominant markers and quantitative traits // Belgian J. Bot. 1997. Vol. 129. P. 157.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Грицких Марина Витальевна

аспирантка, стажер-исследователь
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: genmg@mail.ru
тел. (8142) 769810

Николаевская Татьяна Сергеевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nikol@bio.krc.karelia.ru
тел.: (8142) 573107

Топчиева Людмила Владимировна

руководитель группы мол. биологии, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: topchieva@krc.karelia.ru
тел. (8142) 571879

Федоренко Ольга Михайловна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: fedorenko_om@mail.ru
тел. (8142) 783622

Gritskikh, Marina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: genmg@mail.ru
tel. (8142) 769810

Nikolaevskaya, Tatyana

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nikol@bio.krc.karelia.ru
tel.: (8142) 573107

Topchieva, Lyudmila

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: topchieva@krc.karelia.ru
tel. (8142) 571879

Fedorenko, Olga

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: fedorenko_om@mail.ru
tel. (8142) 783622

УДК 630*114.25:630*232.318

ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОСТИ СРЕДЫ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PINUS SYLVESTRIS* L.) РАЗНОГО ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

А. А. Еркоева, Е. С. Холопцева

Институт биологии Карельского научного центра РАН

Проведено исследование по изучению влияния кислотности среды на энергию прорастания и всхожесть семян сосны обыкновенной разного географического происхождения и выявлены их различия по изученным показателям. По отношению к кислотности среды у семян из лесхозов Ковдозеро и Юшкозеро обнаружено два максимума для энергии прорастания и всхожести – в области высокой кислотности и нейтральных значений pH. Это позволяет объяснить широкую эврибионтность сосны к кислотности почвенной среды, которая может рассматриваться как фактор, участвующий в формировании экотипов сосны обыкновенной на Северо-Западе России.

Ключевые слова: энергия прорастания, всхожесть, семена разного географического происхождения, сосна обыкновенная, кислотность.

A. A. Erkoeva, E. S. Kholoptseva. INFLUENCE OF AMBIENT ACIDITY ON GERMINATION OF SCOTS PINE (*PINUS SYLVESTRIS* L.) SEEDS OF DIFFERENT PROVENANCE

The effect of different pH values on the germinating energy (germination power) and germinating capacity of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seeds of different geographical provenance was studied. Scots pine seeds originating from different locations differ in the germinating energy. The two maxima of the index correlated with areas low and neutral pH values. This fact can explain the spread of Scots pine in a wide range of soil acidity values, and suggests that soil pH is a factor contributing to the formation of Scots pine ecotypes in North-west Russia.

Key words: germinating energy, germinating capacity, seeds of different provenance, Scots pine, pH value.

Введение

Важную роль в селекционно-генетических исследованиях формового разнообразия сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) играет оценка посевных качеств семян [Ефремов и др., 2007]. В природе семена попадают в самые разнообразные условия, представляющие собой комплекс

многочисленных тесно взаимосвязанных климатических и почвенных факторов. Они могут определяться географическим разнообразием территорий, сезонными колебаниями климата, а также микроклиматическими и почвенными особенностями, в том числе и кислотностью почв. Кислотность почвенной среды как экологический фактор роста и развития растений

может определять продуктивность и распределение древесных растений на широтном градиенте [Морозов, 1962]. По данным А. Н. Балашова [1928], оптимальный диапазон кислотности почвы для прорастания сосны – рН от 3,5 до 8,0, для развития проростков – 5,0, по Д. Н. Прянишникову [1934] этот диапазон составляет от 4,0 до 8,2. При этом нижняя граница роста может смещаться до рН 2,8. Однако Вангелисти [Vangelisti et al., 1995] утверждает, что оптимальной кислотностью среды для всхожести семян сосны обыкновенной является рН почвы 6–8. По данным других авторов, этот показатель сдвинут в более кислую сторону, и наиболее благоприятной реакцией среды для прорастания и развития проростков сосны являются условия с рН 3,5–5,0 [Левкина, 1964; Иванов и др., 1966]. Как отмечают А. Я. Орлов, С. П. Кошельков [1971], хорошие древостои встречаются и на весьма кислых почвах рН 3,0–3,5, хотя сосна способна расти и на почвах со щелочной реакцией. Данные литературы дают основание считать, что кислотность среды может быть одним из факторов, которые участвуют в формировании экотипов у этого вида по трансекте широтного градиента от Мурманской обл. до Карелии.

Целью исследования было определение энергии прорастания и всхожести семян сосны обыкновенной разного географического происхождения при разных значениях кислотности среды.

Материал и методы

Для опыта были использованы стандартные семена сосны обыкновенной, полученные из лесосеменных станций лесхозов: Ковдозеро (Мурманская обл.), Поросозеро (Карелия), Юшкозеро (Карелия) (табл. 1). Каждая точка сбора соответствует определенной климатической зоне. Чистые семена по 100 шт. в трехкратной повторности проращивали в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге при температуре 22 °С на свету 10 клк в течение 15 дней. Всего было проведено 72 опыта. Учет этапов роста и развития семян проводился ежедневно в одно время суток. Проросшими счита-

лись семена, длина ростка которых составляла не менее длины семени [Справочник..., 1978]. Опыты проводили при кислотности: рН 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7, которая достигалась путем добавления к дистиллированной воде серной кислоты или гидроксида кальция. Значения кислотности измеряли и контролировали рН-метром (Hanna 213). Биометрические измерения проводили линейкой.

По результатам проращивания рассчитывали энергию прорастания (всхожесть за первые 7 дней) и абсолютную всхожесть (через 15 дней). Значения выражали в процентах от общего числа посеянных семян. Для обработки данных был использован регрессионный анализ [Стрижов, 2008].

Результаты исследований

Энергия прорастания (ЭП) – способность семян быстро и дружно прорасти [ГОСТ 13056.6-97]. Сравнение значений энергии прорастания у семян разного происхождения показало, что наибольшая средняя ЭП отмечается у семян из лесхоза Юшкозеро (70 %), тогда как для семян более северного (лесхоз Ковдозеро) и более южного (лесхоз Поросозеро) происхождения энергия прорастания была меньше (37 % и 41 % соответственно) (табл. 2). Всхожесть семян (ВС) – способность семян давать нормальные проростки за установленный срок при определенных условиях проращивания [ГОСТ 13056.6-97]. Наибольшие значения всхожести семян были также выявлены у растений из лесхоза Юшкозеро (85 %), для остальных она оказалась ниже: из лесхоза Ковдозеро – 51 %, а из лесхоза Поросозеро – 57 %.

Для оценки влияния кислотности на энергию прорастания и всхожесть семян сосны разного географического происхождения по экспериментальным данным были получены уравнения, общий вид которых:

$$y = a_1x^3 + a_2x^2 - a_3x + a_4,$$

где y – энергия прорастания или всхожесть, x – значения кислотности, a_1 – a_4 – расчетные коэффициенты.

На основании расчета по уравнению были построены графики (рис. 1, 2).

Таблица 1. Характеристика мест сбора семян сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) на трансекте Мурманская обл. – Карелия

Место сбора семян	Географические координаты		Природная зона	Таксационная характеристика насаждения		
	с. ш.	в. д.		Состав	Бонитет	Тип леса
Ковдозеро	66°45'40"	31°33'39"	Лесотундра	10С	V	Сосняк брусничный
Юшкозеро	64°44'01"	32°05'53"	Северная тайга	10С	III	Сосняк брусничный
Поросозеро	62°43'05"	32°45'37"	Средняя тайга	8С2Б	III	Сосняк брусничный

Примечание. С – сосна, Б – береза.

Таблица 2. Расчетные показатели кислотности среды для достижения максимума и оптимума энергии прорастания и всхожести семян сосны обыкновенной разного географического происхождения

Место сбора семян	Показатель	Максимум		Оптимум	
		Значение, %	pH	Значение, %	pH
Ковдозеро	Е прорастания	44, 40	3,5; 6,0	39,6	6,0–7,0
	Всхожесть	53,7; 55,9	3,5; 6,0	50,3	5,0–6,5
Юшкозеро	Е прорастания	73; 75,2	3,5; 6,5	67,5	5,5–7,0
	Всхожесть	87,5; 82	3,5; 6,0	77,1	5,5–7,0
Поросозеро	Е прорастания	46,5	6,0	43,7	6,0–7,0
	Всхожесть	54	7,0	48,6	6,5–7,0

Примечание. Е прорастания – энергия прорастания.

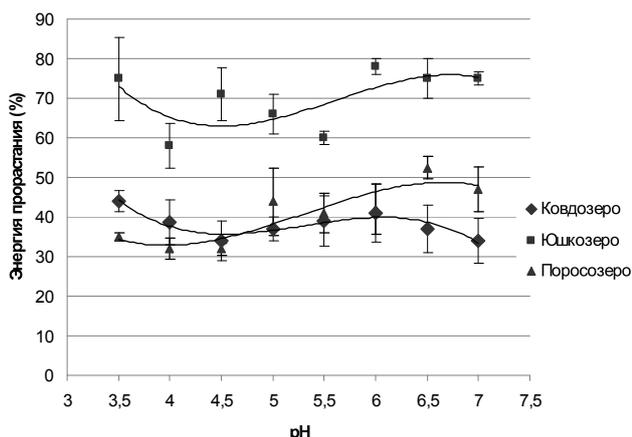


Рис. 1. Влияние кислотности среды на энергию прорастания семян сосны обыкновенной разного географического происхождения (Ковдозеро – $R^2 = 0,88$; Юшкозеро – $R^2 = 0,54$; Поросозеро – $R^2 = 0,78$)

Используя полученные зависимости, можно вывести точки оптимума и максимума энергии прорастания и всхожести семян (табл. 2). Из таблицы видно, что семена лесхозов Ковдозеро и Юшкозеро имеют два максимума – один в области высокой кислотности, второй – в нейтральной области значений pH. Семена из лесхоза Поросозеро показывают один максимум. Однако можно предположить, что второй максимум у семян южного происхождения лежит за пределами исследуемого диапазона кислотности. Факт двух максимумов по кислотности был отмечен и в литературных данных [Манцевич, 1930; Иванов и др., 1966]. Кроме того, становятся понятными их противоречивость [Прянишников, 1934; Сибирева, 1955; Левкина, 1964; Иванов и др., 1966; Vangelisti et al., 1995] и широкая эврибионтность сосны к кислотности среды. Это может быть связано с различными механизмами, которые использует растение при адаптации к условиям разной кислотности, например, индукцию активности разных переносчиков ионов [Алехина и др., 2005]. Однако выявленный нами эффект требует специального изучения.

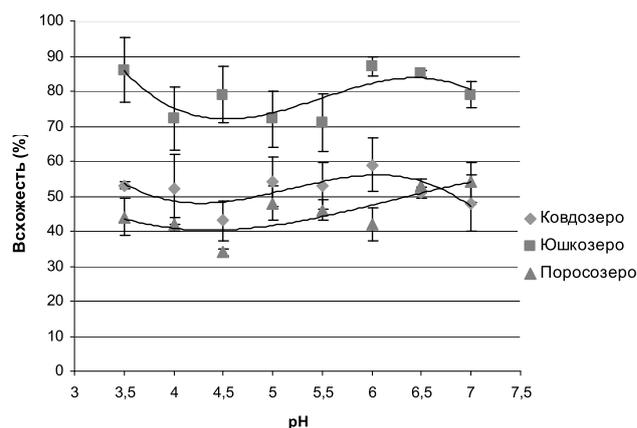


Рис. 2. Влияние кислотности среды на всхожесть семян сосны обыкновенной разного географического происхождения (Ковдозеро – $R^2 = 0,56$; Юшкозеро – $R^2 = 0,58$; Поросозеро – $R^2 = 0,59$)

Проведенное исследование показало, что кислотность среды может рассматриваться как фактор, участвующий в формировании экотипов сосны обыкновенной на Северо-Западе России.

Авторы выражают благодарность Е. Ф. Марковской за помощь в написании статьи и М. И. Сысоевой за консультации по математической обработке.

Литература

- Алехина Н. Д., Балконкин Ю. В., Гавиленко В. Ф. и др. Физиология растений: Учебник для студ. вузов / Ред. И. П. Ермакова. М.: Академия, 2005. 640 с.
- Балашов А. Н. Записки лесной опытной станции Ленинградского с/х института. 1928. Вып. 3. 32 с.
- ГОСТ 13056.6-97. Семена деревьев и кустарников. Метод определения всхожести. Изд-во стандартов, 1998. 25 с.
- Ефремов С. П., Пименов А. В., Седельникова Т. С. Оценка посевных качеств семян болотных и суходольных экотипов сосны обыкновенной // Лесное хозяйство. 2007. № 2. С. 32–33.
- Иванов А. Ф., Пономарева А. В., Дерюгина Т. Ф. Отношение древесных растений к влажности и кислотности почвы. Минск: Наука и техника, 1966. 231 с.

Левкина Т. И. К вопросу об отношении сеянцев древесных пород к реакции среды и известкованию почв лесных питомников // Возобновление леса на вырубках и выращивание сеянцев в питомниках. Петрозаводск: Карельское книжное изд-во, 1964. С. 203–211.

Манцевич Р. О. Материалы по лесному опытному делу БССР. Вып. VI. Минск: Сельхозгиз, 1930. 117 с.

Морозов В. Ф. Биологические основы ухода за лесом. Минск: Сельхозгиз, 1962. 143 с.

Орлов А. Я., Кошельков С. П. Почвенная экология сосны. М.: Наука, 1971. 322 с.

Прянишников Д. Н. Агрохимия. М.; Л.: Наука, 1934. 328 с.

Сибирева З. А. Изменение всхожести семян сосны и ели в зависимости от продолжительности замачивания и кислотности среды // Тр. Ин-та леса АН СССР. 1955. Т. 31. С. 62–64.

Справочник по лесосеменному делу. М., 1978. 335 с.

Стрижов В. В. Методы индуктивного порождения регрессионных моделей. М.: ВЦ РАН, 2008. 55 с.

Vangelisti R., Viegi L., Renzoni G. Cela et al. Responses of Pinus pines and P. pinaster seedling root to substrata at different pH values // Ann. Bot. Fennici. 1995. Vol. 32. P. 19–27.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Еркоева Александра Андреевна

младший научный сотрудник
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: erkoeva@mail.ru
тел. (8142) 762712

Erkoeva, Alexandra

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: erkoeva@mail.ru
tel. (8142) 762712

Холоптцева Екатерина Станиславовна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: holoptseva@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762712

Kholoptseva, Ekaterina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: holoptseva@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762712

УДК 504.5: 582.542.11

ВЛИЯНИЕ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ РАСТЕНИЙ *PHLEUM PRATENSE* L.

Н. М. Казнина, А. Ф. Титов, Г. Ф. Лайдинен, Ю. В. Батова

Институт биологии Карельского научного центра РАН

Изучали влияние промышленного загрязнения почвы тяжелыми металлами (цинком и свинцом) на основные морфологические признаки генеративного побега (высота побега, длина, ширина и площадь подфлагового листа, длина соцветия) тимopheевки луговой (*Phleum pratense* L.). Установлено, что вблизи (на расстоянии 0,5 км) крупных промышленных предприятий (Онежского тракторного завода в г. Петрозаводске и горно-обогатительного комбината в г. Костомукше) абсолютные значения всех изученных показателей у растений уменьшаются (по сравнению с условно «чистым» районом). Уровень же внутривидовой изменчивости большинства из них в этих условиях, наоборот, возрастает, что может рассматриваться в качестве адаптивной реакции, направленной в конечном счете на выживание ценопопуляции, находящейся в неблагоприятных для нее условиях. При удалении от источника загрязнения на расстояние 10 км у растений отмечено только уменьшение размеров листовой пластинки. Последнее указывает на возможность использования этого показателя в качестве одного из диагностических при оценке состояния ценопопуляций данного вида, произрастающих на территориях, загрязненных тяжелыми металлами.

Ключевые слова: *Phleum pratense* L., морфологические признаки, промышленное загрязнение почвы, тяжелые металлы.

N. M. Kaznina, A. F. Titov, G. F. Laidinen, J. V. Batova. EFFECT OF INDUSTRIAL HEAVY METAL POLLUTION OF SOIL ON THE MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *PHLEUM PRATENSE* L.

Effect of heavy metal (zinc and lead) industrial pollution of soil on the morphological characteristics of timothy (*Phleum pratense* L.) was investigated. Absolute values of growth parameters were found to decrease near (0.5 km) industrial enterprises compared with relatively "clean" areas. At the same time, the level of within-population variation of most morphological characteristics increased under these conditions. This fact may be an adaptation directed at survival of the population under unfavorable soil conditions. At a distance of 10 km from the source of pollution plants demonstrated only a decrease in leaf dimensions, wherefore this parameter can be used as a diagnostic factor in assessment of the state of populations of the given species growing in areas with heavy metal pollution.

Key words: *Phleum pratense* L., morphological characteristics, soil industrial pollution, heavy metals.

Введение

Среди многочисленных загрязнителей окружающей среды наиболее токсичными для живых организмов, в том числе растений, являются тяжелые металлы. Естественные концентрации тяжелых металлов в природе, как правило, невелики. Значительное же повышение их содержания в почве связано главным образом с хозяйственной деятельностью человека, и, в первую очередь, с выбросами предприятий горнодобывающей и металлургической промышленности, а также машиностроения [Merrington, Alloway, 1994; Снакин, 1998; Лянгузова, 2005]. Несмотря на то что техногенное загрязнение почв тяжелыми металлами имеет преимущественно локальный характер, определенная часть промышленных выбросов с пылью и в виде аэрозолей может переноситься на большие расстояния, во много раз увеличивая площадь загрязненных ими территорий [Novmand et al., 1983; Барсукова, 1997].

Известно, что увеличение концентрации тяжелых металлов в почве оказывает сильное негативное влияние на рост, развитие и продуктивность растений. В результате на участках вокруг промышленных предприятий происходит нарушение естественных фитоценозов, а в отдельных случаях наблюдается даже полная деградация растительного покрова [Яблоков, 2007; Алексеев, 2008]. Вследствие этого оценка состояния растительных сообществ и отдельных видов растений, произрастающих на территориях с повышенным содержанием тяжелых металлов, чрезвычайно важна, так как может выступать в качестве одного из способов контроля за экологической ситуацией.

Поскольку наиболее распространенными критериями оценки состояния видов растений в сообществе являются изменения их морфологических показателей [Злобин, 1985; Фролова, 1998], задача настоящего исследования состояла в изучении влияния промышленного загрязнения почвы тяжелыми металлами на морфологические признаки генеративного побега тимофеевки луговой (*Phleum pratense* L.) – одного из содоминирующих видов злаков, встречающегося во всех изученных нами травянистых сообществах.

Материал и методы

У растений тимофеевки луговой, произрастающих на участках, расположенных на расстоянии 0,5 и 10 км от двух крупнейших в Карелии предприятий машиностроительной и горнодобывающей промышленности – Онежского

тракторного завода (ОТЗ) в г. Петрозаводске и горно-обогатительного комбината (ГОК) в г. Костомукше, изучали основные морфологические признаки генеративного побега. В качестве контроля использовали растения из условно «чистого» участка, находящегося на территории Агробиологической станции (АБС) Института биологии Карельского научного центра РАН, расположенной в окрестностях г. Петрозаводска.

Для химического анализа почвы на каждом участке отбирали по две индивидуальные почвенные пробы, из которых составляли один смешанный образец [Методические рекомендации..., 1981]. Содержание цинка и свинца в каждом образце определяли в 3–5 аналитических повторностях атомно-абсорбционным методом, используя спектрофотометр AA-6800 (Shimadzu, Япония). Оценку влияния промышленного загрязнения почвы на растения проводили на основании изменения (по сравнению с контролем) следующих показателей генеративного побега: высота побега, длина и ширина подфлагового листа, длина соцветия. Объем выборки в пределах одного участка составлял не менее 10 растений [Методические указания..., 1979]. Площадь листовой пластинки вычисляли по формуле $S = 2/3ld$, где l – длина, d – ширина листовой пластинки [Аникиев, Кутузов, 1961]. Уровень внутривидовой изменчивости признаков оценивали по величине коэффициента вариации (V , %).

Результаты и обсуждение

Из ранее проведенных исследований известно, что почвы вокруг интересовавших нас промышленных предприятий в наибольшей степени загрязнены цинком и свинцом [Потахина и др., 1981; Федорец, Медведева, 2005; Derome, 2008]. Поэтому определялось содержание в почве именно этих элементов. Химический анализ показал, что в большей степени тяжелыми металлами загрязнены участки, расположенные в непосредственной близости (0,5 км) от предприятий (табл. 1). В частности, концентрации цинка на них были в 2,5–3 раза, а свинца – в 2,8–3,5 раза выше, чем в почве контрольного участка. На участках, удаленных от предприятий на расстояние 10 км, концентрации обоих металлов в почве лишь незначительно превышали контроль.

Известно, что многие виды семейства Роасеае, в том числе и тимофеевка луговая, способны произрастать на почвах с довольно высоким содержанием тяжелых металлов [Титов и др., 2007; Лайдинен и др., 2008]. Тем не

менее повышенные концентрации токсичных ионов в корнеобитаемой среде, как правило, приводят к различным изменениям физиологических процессов у злаков, и, в первую очередь, к торможению их роста [Алексеева-Попова, 1991; Prasad et al., 2001; Титов и др., 2002; Лайдинен и др., 2004; Атабаева, 2007 и др.].

Наши исследования показали, что при увеличении содержания тяжелых металлов в почве абсолютные значения всех изученных морфологических признаков генеративного побега у тимофеевки луговой снижаются (по сравнению с контролем). Вместе с тем устойчивость разных показателей роста к почвенному загрязнению оказалась неодинаковой. Наиболее устойчивыми из них явились высота побега и длина соцветия (табл. 2). Достоверное их уменьшение (на 18–20 % и 20–25 % по сравнению с контролем, соответственно) наблюдалось только у растений, произраставших на участках, расположенных в непосредственной близости от предприятий. Показатели, характеризующие рост листа, наоборот, обнаружили более высокую чувствительность к загрязнению почвы тяжелыми металлами. Даже на участках, удаленных от предприятий на 10 км, длина, ширина и площадь подфлагового листа у тимофеевки были заметно меньше, чем на условно «чистом» участке. Так, площадь листа у растений из ценопопуляции, расположенной на расстоянии 10 км от ОТЗ, уменьшалась на 30 % по сравнению с контролем, а у растений, произрастающих в 10 км от ГОКа, – на 37 %. При приближении к источнику загрязнения на расстояние 0,5 км данный показатель у растений снижался еще в большей степени – на 38 % и 50 %, соответственно. Кроме того, у этих растений был обнаружен хлороз верхних листьев и

ускорение старения нижних листьев, что указывает на ухудшение состояния фотосинтетического аппарата, которое обычно приводит к снижению продуктивности отдельных растений и ценопопуляций в целом.

Ранее уменьшение размеров листьев в районах с промышленным загрязнением почвы тяжелыми металлами было обнаружено у *Typha latifolia* L. [Ye et al., 1997], *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. [Pietrini et al., 2003], *Plantago major* L. [Kosobrukhov et al., 2004], *Artemisia annua* L. [Khudsar et al., 2004], *Taraxacum officinale* Wigg. [Жуйкова, 2009] и др. При этом показано, что основной причиной негативного влияния тяжелых металлов на рост листовой пластинки является их прямое действие на деление и растяжение клеток [Van Assche, Glijsters, 1990; Haag-Kerver et al., 1999]. Однако не исключено также и косвенное воздействие токсичных ионов, связанное, например, с нарушениями в минеральном питании и водном режиме растений [Burzynski, 1987; Poschenrieder, Barcelo, 1999; Burzynski, Klobus, 2004]. В отличие от этого, сведения о влиянии загрязнения почвы тяжелыми металлами на размеры генеративного побега и соцветия растений в литературе практически отсутствуют, хотя известно, что у многолетних злаков именно эти признаки являются наиболее стабильными в неблагоприятных условиях внешней среды [Олимпиенко и др., 1982; Калинина, Лайдинен, 1997].

Считается, что устойчивость ценопопуляций растений к действию тех или иных неблагоприятных факторов среды можно оценить по характеру и величине изменений коэффициента вариации отдельных признаков [Давыдова, Моченят, 1991]. Например, в ряде исследова-

Таблица 1. Содержание цинка и свинца в почвах изученных участков

Металл	Содержание тяжелых металлов в почве, мг/кг сухого веса				
	АБС (контроль)	ОТЗ		ГОК	
		0,5 км	10 км	0,5 км	10 км
Zn	25,6 ± 4,1	76,8 ± 12,3*	39,4 ± 6,3*	67,1 ± 10,7*	27,9 ± 4,5
Pb	7,6 ± 0,8	25,7 ± 2,6*	8,0 ± 0,8	21,4 ± 2,2*	10,3 ± 1,1*

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0,05$.

Таблица 2. Влияние загрязнения почвы тяжелыми металлами на морфологические признаки генеративного побега растений *Phleum pratense* L.

Участок	Расстояние от источника загрязнения, км	Морфологические признаки				
		высота побега, см	длина листа, см	ширина листа, см	площадь листа, см ²	длина соцветия, см
АБС (контроль)	–	105,0 ± 2,5	21,1 ± 0,6	0,94 ± 0,2	13,1 ± 0,3	6,0 ± 0,3
ОТЗ	0,5	92,7 ± 4,4*	16,0 ± 1,0*	0,76 ± 0,4*	8,1 ± 0,8*	4,3 ± 0,4*
	10	103,1 ± 1,4	16,4 ± 1,0*	0,85 ± 0,3*	9,3 ± 0,8*	5,5 ± 0,3
ГОК	0,5	85,8 ± 2,1*	14,4 ± 0,8*	0,67 ± 0,3*	6,5 ± 0,6*	4,9 ± 0,4*
	10	100,3 ± 3,3	16,4 ± 0,8*	0,75 ± 0,3*	8,3 ± 0,6*	5,3 ± 0,4

Таблица 3. Вариабельность морфологических признаков (V, %) генеративного побега растений *Phleum pratense* L.

Участок	Расстояние от источника загрязнения, км	Морфологические признаки				
		высота побега	длина листа	ширина листа	площадь листа	длина соцветия
АБС (контроль)	–	13,6	16,0	12,1	24,0	32,3
ОТЗ	0,5	14,9	22,3	15,4	32,3	31,1
	10	4,3	16,7	11,3	27,4	27,1
ГОК	0,5	17,7	20,3	15,8	31,2	29,6
	10	12,5	16,6	11,3	24,3	23,6

ний обнаружено повышение уровня внутривидовой изменчивости морфологических признаков на загрязненных тяжелыми металлами почвах у *Agrostis tenuis* L. [Karataglis, 1980], *Deschampsia caespitosa* L. [Cox, Hutchinson, 1981], *Aster alpinus* L. [Алексеева-Попова, 1991] и *Plantago media* L. [Вайцеховская, 1995]. По мнению авторов, увеличение гетерогенности популяции в ответ на возрастание содержания токсичных ионов в почве создает основу для формирования металлоустойчивых популяций за счет естественного отбора наиболее устойчивых генотипов. Проведенный нами анализ внутривидовой изменчивости морфологических признаков генеративного побега тимopheевки также показал, что на участках, расположенных вблизи (на расстоянии 0,5 км) от промышленных предприятий, ее уровень для большинства изученных параметров роста возрастает по сравнению с условно «чистой» территорией (табл. 3). Исключением явился такой показатель, как длина соцветия, коэффициент вариации которого оставался близким к контролю независимо от степени загрязнения почвы. На участках, расположенных в 10 км от предприятий, заметных изменений (по сравнению с контролем) величины коэффициента вариации обнаружено не было, что, очевидно, можно объяснить относительно невысокими концентрациями тяжелых металлов в почве.

Выводы

Техногенное загрязнение почвы тяжелыми металлами (цинком и свинцом) приводит к уменьшению абсолютных значений (по сравнению с условно «чистой» территорией) основных морфологических признаков генеративного побега у тимopheевки луговой. При этом степень негативного воздействия тяжелых металлов на растения существенно возрастает по мере приближения к источнику загрязнения, т. е. с повышением концентрации токсичных ионов в почве. Сравнительный анализ показателей роста выявил их неодинаковую устойчивость к загрязнению почвы тяжелыми металлами, которая снижается в ряду: высота побега > длина

соцветия > ширина листа > длина листа > площадь листа. Он также показал, что размеры листовой пластинки могут служить хорошим критерием для оценки состояния ценопопуляции данного вида, произрастающей в неблагоприятных почвенных условиях. На участках, расположенных в непосредственной близости от промышленных предприятий, обнаружено заметное возрастание (по сравнению с контролем) уровня внутривидовой изменчивости большинства морфологических признаков генеративного побега, что может рассматриваться в качестве адаптивной реакции, направленной на повышение выживаемости ценопопуляций в этих условиях.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН «Биологическое разнообразие».

Литература

- Алексеев Ю. В. Тяжелые металлы в агроландшафте. СПб.: ПИЯФ РАН, 2008. 216 с.
- Алексеева-Попова Н. В. Токсическое действие свинца на высшие растения (обзор) // Устойчивость к тяжелым металлам дикорастущих видов. Л.: Наука, 1991. С. 92–100.
- Аникиев В. В., Кутузов Ф. Ф. Новый способ определения площади листовой поверхности у злаков // Физиология растений. 1961. Т. 8, № 3. С. 375–377.
- Атабаева С. Д. Физиолого-биохимические основы действия тяжелых металлов на растения: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Алматы, 2007. 34 с.
- Барсукова В. С. Физиолого-генетические аспекты устойчивости растений к тяжелым металлам. Аналитический обзор. Новосибирск, 1997. 63 с.
- Вайцеховская Е. Р. Морфологические и биохимические признаки *Plantago media* L. в связи с антропогенным воздействием (Южное Прибайкалье) // Растительные ресурсы. 1995. Т. 31, вып. 1. С. 75–78.
- Давыдова В. Н., Моченят К. И. Внутривидовые особенности минерального состава *Phlomis tuberosa* при градиенте свинца в среде // Устойчивость к тяжелым металлам дикорастущих видов. Л.: БИН им. В. Л. Комарова, 1991. С. 118–128.
- Жуйкова Т. В. Реакция ценопопуляций и травянистых сообществ на химическое загрязнение среды: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Екатеринбург, 2009. 40 с.

Злобин Ю. А. О некоторых параметрах оценки реакции ценопопуляций на влияние антропогенных факторов // Антропогенные процессы в растительности. Уфа, 1985. С. 89–101.

Калинина С. И., Лайдинен Г. Ф. Морфологические изменения природных популяций *Alopecurus pratensis* (POACEAE) при интродукции // Ботан. журн. 1997. Т. 82, № 10. С. 38–48.

Лайдинен Г. Ф., Таланова В. В., Титов А. Ф., Казнина Н. М. Влияние свинца на рост и развитие *Setaria viridis* (L.) Веаув. // Растительные ресурсы. 2004. Т. 40, вып. 3. С. 53–59.

Лайдинен Г. Ф., Казнина Н. М., Батова Ю. В., Титов А. Ф. Оценка состояния травянистых сообществ в условиях техногенного загрязнения // Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века: Материалы XII съезда Русского ботан. об-ва и Всерос. конф. (Петрозаводск, 22–27 сент. 2008 г.). Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2008. Ч. 6. С. 129–131.

Лянгузова И. В. Промышленное загрязнение окружающей среды (краткий обзор проблемы) // Проблемы экологии растительных сообществ. СПб.: ООО «ВВМ», 2005. С. 23–27.

Методические рекомендации по проведению полевых и лабораторных исследований почв и растений при контроле загрязнения окружающей среды металлами. М.: Гидрометеиздат, 1981. 109 с.

Методические указания по изучению многолетних кормовых трав. Л.: Изд-во ВИРА, 1979. 43 с.

Олимпиаенко Г. С., Титов А. Ф., Николаевская Т. С. Генетические эффекты отбора у многолетних трав. Л.: Наука, 1982. 112 с.

Потахина Л. Н., Пеки Т. Д., Тимофеева В. И. Тяжелые металлы в почвах на территории промышленных предприятий города Петрозаводска // Микроэлементы в биосфере Карелии и сопредельных районов: Межвуз. сб. Петрозаводск: ПГУ им. О. В. Куусинена, 1981. С. 44–48.

Снакин В. В. Свинец в биосфере // Вестник Российской академии наук. 1998. Т. 68, № 3. С. 214–224.

Титов А. Ф., Лайдинен Г. Ф., Казнина Н. М. Влияние высоких концентраций кадмия на рост и развитие ячменя и овса на ранних этапах онтогенеза // Агрехимия. 2002. № 9. С. 61–65.

Титов А. Ф., Таланова В. В., Казнина Н. М., Лайдинен Г. Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2007. 170 с.

Федорец Н. Г., Медведева М. В. Эколого-микробиологическая оценка состояния почв города Петрозаводска. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2005. 96 с.

Фролова Н. П. Семенное воспроизводство *Taraxacum officinale* Wigg. в условиях техногенных загрязнений // Репродуктивная биология. Тр. КомиНЦ УрО, 1998. С. 41–50.

Яблоков А. В. Россия: здоровье природы и людей. М.: ООО «Галлея-принт», 2007. 224 с.

Burzyński M. The influence of lead and cadmium on the absorption and distribution of potassium, calcium, magnesium and iron in cucumber seedlings // Acta Physiol. Plant. 1987. Vol. 187, N 9. P. 229–238.

Burzyński M., Kłobus G. Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd and Pb stress // Photosynthetica. 2004. Vol. 42, N 4. P. 505–510.

Cox R. M., Hutchinson T. C. Multiple and co-tolerance to metals in the grass *Deschampsia caespitosa*: adaptation, preadaptation and «cost» // J. Plant Nutr. 1981. Vol. 3, N 1. P. 731–741.

Derome J. Effect of emissions from the Kostamus mining industry on metal concentrations in forest berries and edible mushrooms in eastern Kainuu // Working Papers of the Finnish Forest Research Institute. Helsinki: METLA, 2008. P. 50–64.

Haag-Kerwer A., Schäfer H. J., Heiss S. et al. Cadmium exposure in *Brassica juncea* causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis // J. Exp. Bot. 1999. Vol. 50, N 341. P. 1827–1835.

Hovmand M. F., Tjell J. C., Mosbaek H. Plant uptake of airborne cadmium // Environ. Pollut. Ser. A. 1983. Vol. 30. P. 27–32.

Karataglis S. S. Differential tolerance of *Agrostis tenuis* populations growing at two mine soils to Cu, Zn, Pb // Phytol. 1980. Vol. 20, N 1–2. P. 15–22.

Khudsar T., Mahmooduzzafar, Iqbal M., Sairam R. K. Zinc-induced changes in morphophysiological and biochemical parameters in *Artemisia annua* // Biol. Plant. 2004. Vol. 48. P. 255–260.

Kosobrukhov A., Knyazeva I., Mudrik V. *Plantago major* plants responses to increase content of lead in soil: Growth and photosynthesis // Plant Growth Regul. 2004. V. 42. P. 145–151.

Merrington G., Alloway B. J. The flux of Cd, Cu, Pb and Zn in mining polluted soils // Water Air Soil Pollut. 1994. Vol. 73. P. 333–344.

Pietrini F., Iannelli M. A., Pasqualini S., Massacci A. Interaction of cadmium with glutathione and photosynthesis in developing leaves and chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel // Plant Physiol. 2003. Vol. 133. P. 829–937.

Poschenrieder C., Barceló J. Water relation in heavy metals stressed plants // Heavy Metal Stress in Plants. From Molecules to Ecosystems. Berlin; Heidelberg; New York: Springer-Verlag, 1999. P. 207–231.

Prasad M. N. V., Malec P., Waloszek A. et al. Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation // Plant Sci. 2001. Vol. 161. P. 881–889.

Van Assche F., Glijsters H. Effects of metals on enzyme activity in plants // Plant Cell Environ. 1990. Vol. 13, N 1. P. 195–206.

Ye Z. H., Baker A. J., Baker M. et al. Zinc, lead and cadmium tolerance, uptake and accumulation by *Typha latifolia* // New Phytol. 1997. Vol. 136. P. 469–480.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Казнина Наталья Мстиславовна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: kaznina@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762706

Титов Александр Федорович

председатель КарНЦ РАН, чл.-корр. РАН, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: krcras@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 769710

Лайдинен Галина Федоровна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: laidinen@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762706

Батова Юлия Валерьевна

младший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: batova@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762706

Kaznina, Natalia

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: kaznina@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762706

Titov, Alexandr

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: krcras@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 769710

Laidinen, Galina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: laidinen@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762706

Batova, Yulia

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: batova@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762706

УДК 581.154+575.224.46: 582.542.1.

ГРУЗ ПИГМЕНТНЫХ МУТАЦИЙ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ РАСТЕНИЙ В ПОТОМСТВАХ *FESTUCA PRATENSIS* HUDS., СФОРМИРОВАННЫХ НА МУТАНТНОЙ ОСНОВЕ

О. Н. Лебедева, Т. С. Николаевская, А. Ф. Титов

Институт биологии Карельского научного центра РАН

Представлены результаты исследований груза пигментных мутаций и выживаемости у многолетнего перекрестноопыляющегося злака *Festuca pratensis* Huds. в ближайших и отдаленных от мутагенного воздействия потомствах. Показаны длительность мутационного процесса, нестабильность результатов как по частоте, так и по спектру пигментных мутаций, а также зависимость их фенотипического проявления от уровня выживаемости и условий культивирования растений. Установлены высокая выживаемость и сильное давление стабилизирующего отбора в отношении компонентов выживаемости у мутантных потомств, сформированных на основе действия химических мутагенных агентов.

Ключевые слова: индуцированный мутагенез, пигментные мутации, выживаемость, *Festuca pratensis* Huds.

O. N. Lebedeva, T. S. Nikolaevskaya, A. F. Titov. PIGMENT MUTATION LOAD AND SURVIVAL RATE OF PLANTS IN *FESTUCA PRATENSIS* HUDS. MUTATION BASED PROGENY

The paper presents the results of research into the pigment mutation load and the survival rate in the perennial cross-pollinated grass *Festuca pratensis* Huds. in generations immediately following and remote from the mutation generating impact. Long duration of the mutation process, instability of the results both in terms of the frequency and of the spectrum of pigment mutations, as well as dependence of their phenotypic manifestation on the plants' survival rate and cultivation conditions are demonstrated. High survival rate and strong pressure of stabilizing selection for components of the survival rate were detected in the generations of mutant progeny formed through the action of chemical mutagen agents.

Key words: unduced mutagenesis, pigment mutations, survival rate, *Festuca pratensis* Huds.

Введение

Важнейшая проблема индуцированного мутагенеза у высших растений касается специфичности и продуктивности действия мутаген-

ных агентов, длительности генетической нестабильности мутантных популяций, их выживаемости и жизнеспособности, влияния панмиксии. Однако при индуцированном мутагенезе перекрестноопыляющихся видов расте-

ний, в том числе и многолетних злаков, возникают трудности с переводом мутантных генов в гомозиготное состояние. Впервые на это обратил внимание С. Бликст [Blizt, 1976], показав преимущество парного скрещивания мутантного и интактного растений в сравнении с самоопылением и перекрестным опылением обработанных мутагенами растений. Отличия в частотах составили не более 0,5 % при общей частоте выщепляющихся мутантов, равной 1,5–2,0 %. Попытки анализа мутационного процесса у перекрестноопыляющихся видов растений встречаются довольно редко [Drozdová, 1985; Алексеева, Парок, 1989]. Чаще всего мутагенные агенты используются лишь для получения исходного селекционного материала [Будяк, 1971; Писковацкий, 1975; Кремина, Кулешов, 1982].

Целью настоящего исследования явилась оценка величины и характера формирования индуцированного генетического груза (на основе теста «хлорофилльные мутации»), выживаемости растений и действия естественного отбора в отношении компонентов выживаемости в ближайших и отдаленных от мутагенного воздействия потомствах.

Материал и методы

В качестве объекта исследований использовали диплоидный многолетний перекрестноопыляющийся злак – овсяницу луговую (*Festuca pratensis* Huds.; $2n = 14$). Исследование проводилось на M_3 – M_5 -потомствах, сформированных на основе независимого и комбинированного действия физических (γ -излучение) и химических (этилметансульфонат, этиленимин, азид натрия) мутагенных агентов. Доза облучения, концентрации химических мутагенов и последовательность обработки приведены в табл. 1. Растения M_1 культивировали при умеренном фоне почвенного питания растений ($N_{60}P_{60}K_{60}$). Семена, полученные с растений M_1 на основе трех способов опыления (ауткросс, инцухт,

гибридизация), высевали семьями, и в дальнейшем проводили внутрисемейное опыление в течение трех вегетационных периодов. В M_2 – M_4 -поколениях внутрисемейное опыление следовало после ауткросса. Оценку выживаемости растений в условиях полевого эксперимента осуществляли при трех уровнях почвенного питания растений: высоком (органические удобрения – 60 т/га + $N_{120}P_{60}K_{60}$), умеренном ($N_{60}P_{60}K_{60}$) и низком (почва не удобрялась).

В лабораторном эксперименте десятидневные проростки M_3 – M_5 -поколений, выращенные в фитотроне между двумя слоями влажной фильтровальной бумаги при температуре 25 °С и круглосуточном освещении 96–120 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, оценивали по частоте и спектру пигментных (хлорофилльных) мутаций [Калам, Орав, 1974]. Для каждого способа опыления проанализировано 44–56 семей, для вариантов мутагенной обработки – 1000–7000 проростков.

Оценку выживаемости проводили на основе анализа фертильности пыльцы, всхожести семян, доли выживших проростков и доли растений, достигших репродуктивного развития. Общую выживаемость рассчитывали как произведение компонентов выживаемости в долях [Тимофеев-Ресовский и др., 1977].

Для оценки действия естественного отбора (стабилизирующей формы) вычисляли среднюю арифметическую, а также разность между средним и конкретным значением соответственно для каждого признака. Полученные ряды разностей ранжировали. По диаграммам рядов разностей от средней вычисляли тренды (линии рассеивания) и по углу их наклона (крутизны) устанавливали степень различий между группами индивидуумов (особей) в отношении действия стабилизирующего отбора. Использовали формулу линейной регрессии $y = a + bx$, где y – разность между средним и конкретным значением признака; a – значение пересечения линии тренда с осью Y ; b – tg угла наклона линии тренда; x – номер ранга особи. Отклонения от средних в большинстве слу-

Таблица 1. Способы и условия обработки семян *Festuca pratensis* γ -квантами и химическими мутагенами

Способ мутагенной обработки семян	Доза (концентрация) мутагена, сопутствующие условия
Контроль	Замачивание в дистиллированной воде – 8 часов, отмывка проточной водопроводной водой – 1 час
γ -излучение	Облучение сухих семян дозой 30 Гр, 3, 14 Гр/мин, РОКУС 018, ^{60}Co , замачивание, отмывка
Этилметансульфонат (ЭМС)	2%-й раствор, экспозиция 1 час, трисбуфер (рН 7), отмывка
Этиленимин (ЭИ)	0,08%-й раствор, экспозиция 1 час, трисбуфер (рН 7), отмывка
Азид натрия (NaN_3)	0,0065%-й раствор, экспозиция 4 часа, глицил-глициновый буфер (рН 3), отмывка
γ + ЭМС	Непосредственно после γ -облучения семян обработка ЭМС, отмывка
γ + ЭИ	Непосредственно после γ -облучения семян обработка ЭИ, отмывка
γ + NaN_3	Непосредственно после γ -облучения семян обработка NaN_3 , отмывка

чаев значительно отличались друг от друга при $p < 0,05$, что вместе со значениями коэффициента детерминации позволяет считать результаты статистически достоверными. Все вычисления проведены в программе MS Excel 6 [Кох, 1994].

Статистическую оценку учета мутаций и влияния мутагенной обработки на частоту пигментных мутаций проводили с использованием рангового критерия Фридмана, сравнение долей выборок – по методу Фишера [Зайцев, 1984], оценку взаимных связей – через коэффициент непараметрической корреляции Кендалла [Айвазян и др., 1985].

Результаты и обсуждение

Для определения частоты индуцированных мутаций у многих видов растений в качестве основного критерия используются видимые рецессивные мутации, связанные с нарушением синтеза хлорофилла, которые могут быть проанализированы уже на стадии проростка [Найлэн, 1967]. В нашем исследовании при выборке 1–7 тыс. проростков по каждому мутантному потомству зависимость выхода частоты хлорофилльных мутантов от способа перевода мутантных генов в гомозиготное состояние (ауткросс, инцухт, гибридизация) статистически не подтвердилась. Одной из возможных причин является то, что один и тот же мутантный фенотип контролируется не единственным генным локусом. Очевидно, этим же объясняется и наличие семей, неустойчиво выщепляющих мутации в течение трех лет наблюдений (табл. 2).

Для контроля над величиной груза мутаций был выбран внутрисемейный инцухт, следующий после ауткросса. При таком чередо-

вании способов опыления отчетливо проявляются и сохраняются на протяжении трех генераций различия между потомствами, полученными на основе воздействия химическими мутагенами и комбинированного применения их с γ -радиацией. Как показали исследования, для получения наибольшего количества мутаций в ранних генерациях предпочтительнее следующее чередование типов опыления: инцухт соцветия в M_1 , а затем инцухт семей M_2 -растений (рис. 1).

Наибольшая частота хлорофилльных мутаций (20–30-кратное превышение над контролем) в нашем, как и в ряде других исследований [Heiner et al., 1960; Blizt et al., 1963; Gustafsson, 1963], наблюдалась у растений M_3 -потомств, сформированных на основе действия алкилирующих монофункциональных соединений (этиленимин, этилметансульфонат). В случае применения γ -излучения и азидата натрия отмечено 7–10-кратное превышение частоты мутаций над контролем. Комбинированное использование γ -излучения с алкилирующими соединениями по тесту «хлорофилльные мутации»

Таблица 2. Выщепление пигментных мутаций в M_3 -поколении при различных способах опыления растений *Festuca pratensis*

Способ опыления	Проанализировано семей	Семьи, выщепляющие мутации, %		
		всего	устойчиво	неустойчиво
Ауткросс M_1 , инцухт семей M_2	56	30,4	16,1	14,3
Гибридизация M_1 , инцухт семей M_2	44	34,1	13,6	20,5
Инцухт соцветия M_1 , инцухт семей M_2	47	44,7	12,8	31,9

Таблица 3. Зависимость частоты пигментных мутаций у M_3 – M_5 -проростков от способа мутагенной обработки семян

Потомства	M_3 -проростки				M_4 -проростки				M_5 -проростки			
	Проанализировано проростков	Частота мутаций в долях 1×10^{-2}	p_1	p_2	Проанализировано проростков	Частота мутаций в долях 1×10^{-2}	p_1	p_2	Проанализировано проростков	Частота мутаций в долях 1×10^{-2}	p_1	p_2
Контроль	3424	0,12			1802	0,72			1542	0,52		
γ -потомство	3306	1,24	>0,001		4152	1,67	>0,01		2153	1,25	>0,05	
ЭМС-	4590	2,70	>0,001	>0,001	3211	1,46	>0,05	>0,001	2683	5,03	>0,001	>0,001
γ + ЭМС-	5162	0,78	>0,001		814	3,69	>0,001		2181	0,50	<0,05	
ЭИ-	6672	3,22	>0,001	>0,001	1479	1,49	>0,05	>0,05	1459	1,30	>0,05	>0,001
γ + ЭИ-	3827	0,13	<0,05		1519	1,05	<0,05		2071	11,25	>0,001	
NaN_3 -	3382	0,83	>0,001	>0,01	1973	3,96	>0,001	>0,001	3338	1,50	>0,001	>0,01
γ + NaN_3 -	5650	0,48	>0,001		2056	0,63	<0,05		999	2,60	>0,001	

Примечание. p_1 – достоверность различий между контролем и мутантными потомствами; p_2 – достоверность различий между мутантными потомствами: «химический мутаген» и « γ -облучение + химический мутаген».

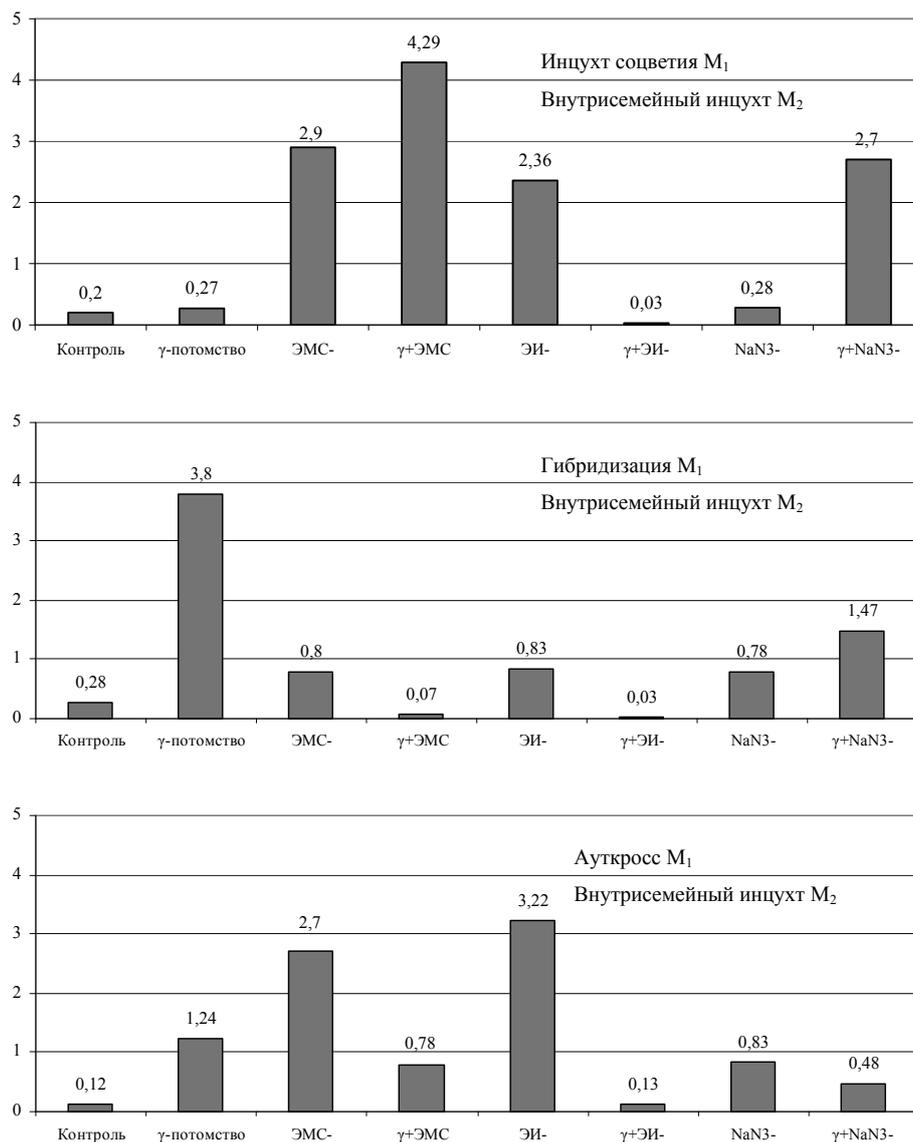


Рис. 1. Зависимость частоты пигментных мутаций от способа опыления у M_3 -мутантных потомств:

по оси ординат – частота пигментных мутаций, %; по оси абсцисс – потомства

или не давало эффекта (результат не превышал контроль), или он был не столь значительным: 4–6-кратное повышение (табл. 3).

По данным нашего анализа этот последний результат связан с элиминацией растений уже в первых генерациях после комбинированной обработки семян мутагенами, и в варианте γ + ЭИ-потомства особенно высокой. Элиминация растений и частота пигментных мутаций оказались количественно связаны, но лишь в пределах двух следующих друг за другом генераций (M_2 – M_3). Как оказалось, уровень элиминации растений в мутантных популяциях поддается регулированию через уровень почвенного питания. «Комфорту» (высокий фон почвенного питания) и дефициту (обедненный фон почвен-

ного питания) адекватно соответствуют реакции толерантности и резистентности, при которых элиминация растений в условиях полевого эксперимента минимальна. Чередование условий «дефицит – комфорт» или «комфорт – дефицит» сохраняет выживаемость растений при высоком уровне генетических повреждений клеток, и это важно в селекционном отношении (табл. 4).

Анализ частоты пигментных мутаций M_4 - и M_5 -поколений показал существование у мутантных потомств долгоживущих потенциальных генетических повреждений ДНК, постепенно переходящих в реальные (табл. 3). Возможно, именно поэтому экспериментальные данные двух последующих генераций (M_3 – M_4 ; M_4 – M_5) у

Таблица 4. Элиминация растений *Festuca pratensis* в зависимости от характера мутагенной обработки семян и условий выращивания в M₁–M₅-поколениях, %

Потомство	Фон почвенного питания материнских растений в двух последующих поколениях						
	умеренный, M ₁ высокий, M ₂	высокий, M ₂ высокий, M ₃	высокий, M ₂ умеренный, M ₃	умеренный, M ₁ умеренный, M ₂	умеренный, M ₂ умеренный, M ₃	умеренный, M ₃ умеренный, M ₄	умеренный, M ₄ умеренный, M ₅
Контроль	7	2	0	6	5	0	12
γ-потомство	2	2	0	10	0	0	12
ЭМС-	5	0	2	8	0	0	6
γ + ЭМС-	0	11	0	14	0	0	10
ЭИ-	5	5	2	8	0	0	20
γ + ЭИ-	4	14	0	22	0	0	30
NaN ₃ -	3	5	0	14	0	0	12
γ + NaN ₃ -	3	5	0	4	0	0	4

ЭМС-, γ + ЭМС-, ЭИ-, NaN₃-потомств характеризуются простой закономерностью: ниже частота хлорофилльных мутаций в предшествующей генерации и выше – в последующей. Эта закономерность не относится к γ-потомству, показывающему по пигментным мутациям стабильные результаты в M₃–M₅ генерациях. В вариантах γ + ЭИ- и γ + NaN₃-потомств частота мутаций возрастала от M₃- к M₅-поколению. Превышение частоты пигментных мутаций над контролем в M₅-поколении составило 2–7-кратный уровень у потомств, полученных на основе действия химических мутагенов, и 5–20-кратный уровень – при комбинированном применении их с γ-радиацией (табл. 3). Общее количество мутаций, выщепляющихся у мутантных потомств, возрастает от M₃-, M₄- к M₅-генерации (соответственно 9,38; 13,95 и 23,43 %), что указывает на значительную величину генетического груза в отдаленных от мутагенного воздействия потомствах, скрытого от действия отбора, вероятнее всего, высоким уровнем гетерозиготности перекрестно-опыляющихся растений. Оценка варьирования частоты пигментных мутаций по поколениям у 7 мутантных потомств показала, что оно существенно и статистически значимо ($\chi^2 = 12,25$; $p < 0,01$). Увеличение частоты пигментных мутаций к M₅-поколению привело к снижению выживаемости растений и возрастанию их элиминации, особенно высокой у ЭИ- и γ + ЭИ-потомств (табл. 4). Таким образом, полученные результаты показывают, что процессы изменения величины груза пигментных мутаций и выживаемости растений носят волнообразный характер со сдвигом максимума частот на одно-два поколения.

Аддитивный эффект совместного действия γ-радиации и химических мутагенов при используемых способах обработки, дозе γ-излучения и концентрациях химических мутагенов по тесту «пигментные мутации» не выявлен. Одна из причин отсутствия аддитивного эффекта при комбинированном применении

мутагенных агентов может быть связана с развитием реакции адаптивного ответа – индукцибельной формы репарации ДНК, направленной против повреждений, обусловленных алкилированием [Samson, Cairns, 1977]. Изучение радиочувствительности растений M₃-потомств с использованием кофеина позволило выявить у них реакцию адаптивного ответа [Олимпиаенко, Павлова, 1990]. Кривые дозовой зависимости по уровню клеточной пролиферации имели различные формы у потомств, полученных на основе действия химических мутагенов и комбинированного применения γ-излучения и алкилирующих соединений. Для первой группы потомств характерны кривые доза – эффект с максимумом в середине, а не в начале диапазона доз. Данные, полученные с использованием кофеина, отчетливо указывают, что подобная реакция относится к классу адаптивных: форма кривой, отражающей наличие адаптивного ответа, утрачивается и приобретает альтернативный характер.

Спектр пигментных мутаций в группе M₃-потомств, сформированных на основе действия алкилирующих агентов, был шире, чем у γ-потомства, и в количественном отношении преобладал мутантный тип *viridis*. Совместное использование мутагенных агентов изменяло соотношение основных типов мутаций: у γ + ЭМС-потомства превалировали мутации *albina*, у γ + NaN₃-потомства отмечен более широкий спектр мутаций, чем при независимой обработке, спектр мутаций у γ + ЭИ-потомства обеднен (рис. 2). У M₄-потомств (по сравнению с M₃) произошло изменение спектра депигментации проростков: он расширился у NaN₃-, γ + ЭМС- и γ-потомств и сузился у ЭИ- и γ + NaN₃-потомств. Наибольшее колебание частот у всех потомств отмечено по основному мутантному типу *viridis* и по количеству мутантных проростков с фенотипом *albina*. Число потомств, имеющих более глубокий тип депигментации – *xantha* и комбинированные фенотипы, увеличилось (табл. 5).

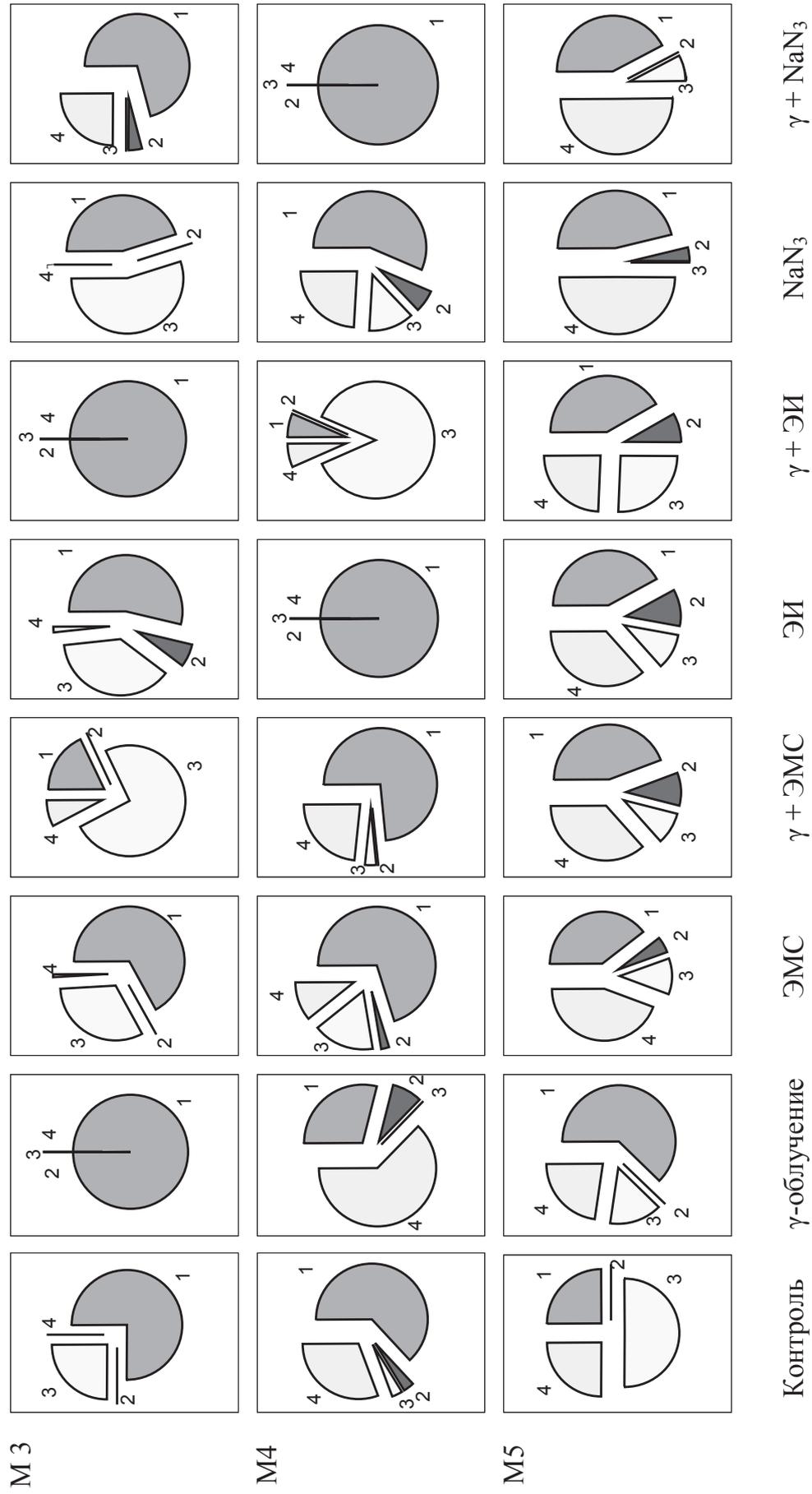


Рис. 2. Частота и спектр отдельных классов пигментных мутаций у мутантных потомств M_3 – M_5 -поколений:
 1 – *viridis*, 2 – *xantha*, 3 – *albina*, 4 – комбинированные фенотипы. Мутантные потомства: γ -облучение, ЭМС, γ + ЭМС, ЭИ, γ + ЭИ, NaN_3 , γ + NaN_3

Таблица 5. Общее число мутантных классов пигментных мутаций в M_3 – M_5 -поколениях *Festuca pratensis*

Потомство	Поколение		
	M_3	M_4	M_5
Контроль	2	5	3
γ -потомство	1	5	7
ЭМС-	4	4	12
γ + ЭМС-	3	4	6
ЭИ-	5	1	6
γ + ЭИ-	1	3	11
NaN_3 -	2	5	8
γ + NaN_3 -	4	1	6

В M_5 -поколении у мутантных потомств увеличивается не только частота пигментных мутаций, но и сохраняется тенденция расширения фенотипического спектра за счет *xantha*, *albina* и комбинированных фенотипов, что, на наш взгляд, связано с отсутствием в M_3 – M_4 -поколениях элиминации растений, несущих нежизнеспособные мутации (рис. 2). В целом спектр хлорофильных мутаций, так же как и их частота, характеризуется значительным варьированием результатов у всех мутантных потомств на протяжении трех генераций. Немногочисленные данные литературы также показывают нестабильность результатов в M_2 - и M_3 -поколениях у многолетних перекрестноопыляющихся злаков *Phleum pratense* L. и *Festuca pratensis* Huds. как по частоте пигментных мутаций, так и по отдельным фенотипическим классам [Blitz, 1976; Drozdová, 1985].

Оценка специфичности и продуктивности действия физических и химических мутагенов в отношении пигментных мутаций является одним из дискуссионных и нерешенных вопросов мутагенеза у высших растений. В работах Найлона и Конзака [Nilan, Konzak, 1961] химические мутагены (ДЭС, ЭМС и ЭИ) индуцировали у ячменя большее количество мутаций с фенотипом *viridis* и *xantha* и меньшее – с фенотипом *albina*, чем рентгеновское и γ -облучение. Авторы сделали такой вывод, опираясь на большое число полученных мутантных типов, использованных для анализа мутационных спектров. Аналогичные данные в отношении алкилирующих соединений получены на ячмене и другими исследователями [Ehrenberg et al., 1961; Gustafsson, 1963]. Отличия в спектрах пигментных мутаций авторы связывают с различиями как в частоте индуцированных хромосомных aberrаций, так и/или в фертильности растений.

Показана также зависимость фенотипического спектра от целого ряда внешних факторов, прежде всего, температурных условий выращивания растений [Hallquist, 1924; Collins, 1937; Nybom, 1955; Hänsel, 1960; Gaul, 1964].

В приведенных исследованиях специфичность действия физических и химических мутагенов оценивалась, как правило, лишь в одном: M_2 - или M_3 -поколении, об условиях их культивирования не сообщалось.

Анализ спектра пигментных мутаций в отношении специфичности действия γ -излучения и химических мутагенов, проведенный нами на трех последовательных мутантных поколениях, показывает, что выщепление отдельных типов мутаций у потомств, полученных на основе действия γ -излучения и алкилирующих соединений, колеблется от поколения к поколению (рис. 2). Статистическая оценка этого события для фенотипа *viridis*, который дает наибольшую частоту, выявила отсутствие влияния показателя «потомства» (генетических особенностей мутантных потомств, связанных с действием физических и химических мутагенных агентов) на его проявление ($\chi^2 = 8,94$; $p > 0,05$). В то же время сила влияния показателя «поколение» (генотипических особенностей мутантных потомств в каждом поколении и условий их культивирования) оказалась существенной ($\chi^2 = 390,0$; $p < 0,001$).

Приведенные результаты позволяют предположить, что специфичность действия мутагенов обусловлена, вероятнее всего, процессами внутриклеточного характера, не имеющими прямого отношения к реакции отдельных локусов на действие мутагенов. Преимущественное появление определенных мутантных фенотипов зависит не только от первичного генетического акта, т. е. взаимодействия мутагена и ДНК, но и от тех последствий, которые вносят активность ферментов репарации, наличие предшественников репарационного синтеза ДНК, процессы трансляции, размножение клеток, несущих мутации, и внешние условия: температура, кислород, почвенное питание растений. Таким образом, при оценке специфичности действия физических и химических мутагенов важно не только достаточно большое количество отдельных типов пигментных мутаций, но необходим и анализ спектра пигментных мутаций в ряде мутантных поколений, а также контроль за условиями выращивания растений.

Алкилирующие мутагенные агенты в нашем исследовании (ЭМС и ЭИ) оказались более продуктивны, чем γ -излучение, в отношении индуцированных пигментных мутаций: их количество (в сумме за три поколения), несмотря на колебания частот по поколениям, в 1,5–2 раза больше, чем у γ -потомства.

Следует отметить существование взаимосвязи спектра пигментных мутаций с мор-

фологическими мутациями, характеризующими жизнеспособность растений и являющимися ценными в селекционном отношении. Например, частота хлорофилльных мутаций у гороха и ячменя часто коррелирует с частотами других мутаций (эректоидные и карликовые мутанты, стерильные и полустерильные формы), что важно при теоретическом и практическом обосновании мутационной селекции [Lefort, 1959; Heringa, 1964; Ахунд-Заде, Хвостова, 1966; Сидорова, 1966; Валева, 1967; Орав и др., 1972]. У гороха расширение спектра хлорофилльных мутаций сопровождалось разнообразием морфологических мутаций, хотя автор не отрицает случаев, когда положительная зависимость между частотой пигментных и морфологических мутаций отсутствовала [Сидорова, 1966].

В M_2 -поколении нами был выделен морфологический мутант эректоидного типа (компактный узел кущения, небольшое количество репродуктивных побегов и его средняя толщина, темно-зеленые с восковым налетом вертикально расположенные листья, компактная, реже полураскидистая метелка, крупные семена), но только при высоком уровне почвенного питания растений. Частота их у мутантных потомств оказалась незначительной: γ -потомство – 0,01, ЭМС-потомство – 0,02, ЭИ-потомство – 0,06. В последующем эректоиды были выделены только в M_6 -поколении.

Между частотой пигментных мутаций, показателями жизнеспособности (фертильность пыльцы, всхожесть семян, масса 1000 семян) и репродуктивной способностью растений (масса семян на растение) в M_3 – M_5 -поколениях не выявлено отрицательных корреляций. Это обусловлено гибелью хлорофилльных мутантов, не способных к восстановлению уже на ранних этапах развития в полевых условиях. Генетический груз в форме пигментных мутаций оказал негативное влияние лишь на формирование массы 10-дневных проростков (табл. 6).

Таблица 6. Взаимосвязь пигментных мутаций с показателями жизнеспособности и выживаемости у M_3 – M_5 -потомств *Festuca pratensis*

Показатель жизнеспособности	Потомство		
	M_3	M_4	M_5
Фертильность пыльцы	0,07	0,07	0,29
Всхожесть семян	0,26	–0,05	–0,55*
Надземная масса, г/растение	0,07	0,29	–0,36
Масса семян, г/растение	0,86*	0,04	–0,11
Масса 1000 семян	–0,21	–	0,75*
Масса 100 проростков	–0,64*	–0,64*	–0,71*

Примечание. Значение коэффициента непараметрической корреляции по Кэндаллу значимо при $p < 0,05$.

Изучение общей выживаемости панмиктических популяций, представленной частотами жизнеспособных особей на разных этапах онтогенетического развития растений трех последовательных генераций (M_3 – M_5 , 15 лет наблюдений), показало, что она выше у мутантных потомств, сформированных на основе действия химических мутагенных агентов, чем у потомств, сформированных на основе комбинированного их действия с γ -радиацией (табл. 7). Максимальные различия в выживаемости двух групп мутантных потомств выявлены в годы с наиболее благоприятными условиями произрастания растений. Величины относительной выживаемости (в сравнении с контрольной популяцией) указывают на развитие компенсационных реакций, обеспечивающих повышенную выживаемость растений только у потомств, сформированных на основе действия химических мутагенных агентов. Аналогичные эффекты в выживаемости мутантных особей тутового шелкопряда и растений гороха были получены ранее и объяснялись авторами формированием у них компенсационного комплекса генов [Струнников, 1974; Гостимский и др., 1987].

Оценка действия естественного (стабилизирующего) отбора в отношении растений с естественным и индуцированным генетическим грузом представляет особый интерес [Шмалгаузен, 1969; Алтухов, 2003]. Анализ ранжированных отклонений от среднего арифметического значения выживаемости и жизнеспособности растений на разных этапах онтогенеза (фертильность пыльцы, всхожесть семян, частота выживших проростков, частота растений, достигших репродуктивного развития) показал, что интенсивность стабилизирующего отбора на протяжении пяти поколений определяется типом мутагенеза (радиационный, химический) и способом использования мутагенов (простая и комбинированная обработка) (рис. 3). В отношении мутантных потомств, сформированных на основе простой обработки семян химическими мутагенами (ЭИ, ЭМС, NaN_3), стабилизирующий отбор действует более жестко для всех изученных признаков (пологие линии трендов), по сравнению с потомствами, сформированными на основе комбинированного их действия с γ -радиацией (более крутые линии трендов). γ -потомства характеризуются наиболее жестким давлением стабилизирующего отбора. В контроле действие стабилизирующего отбора проявляется в меньшей степени, чем у мутантных потомств.

Таким образом, анализ пигментных мутаций при описании количественных и качественных эффектов действия мутагенных агентов (как в

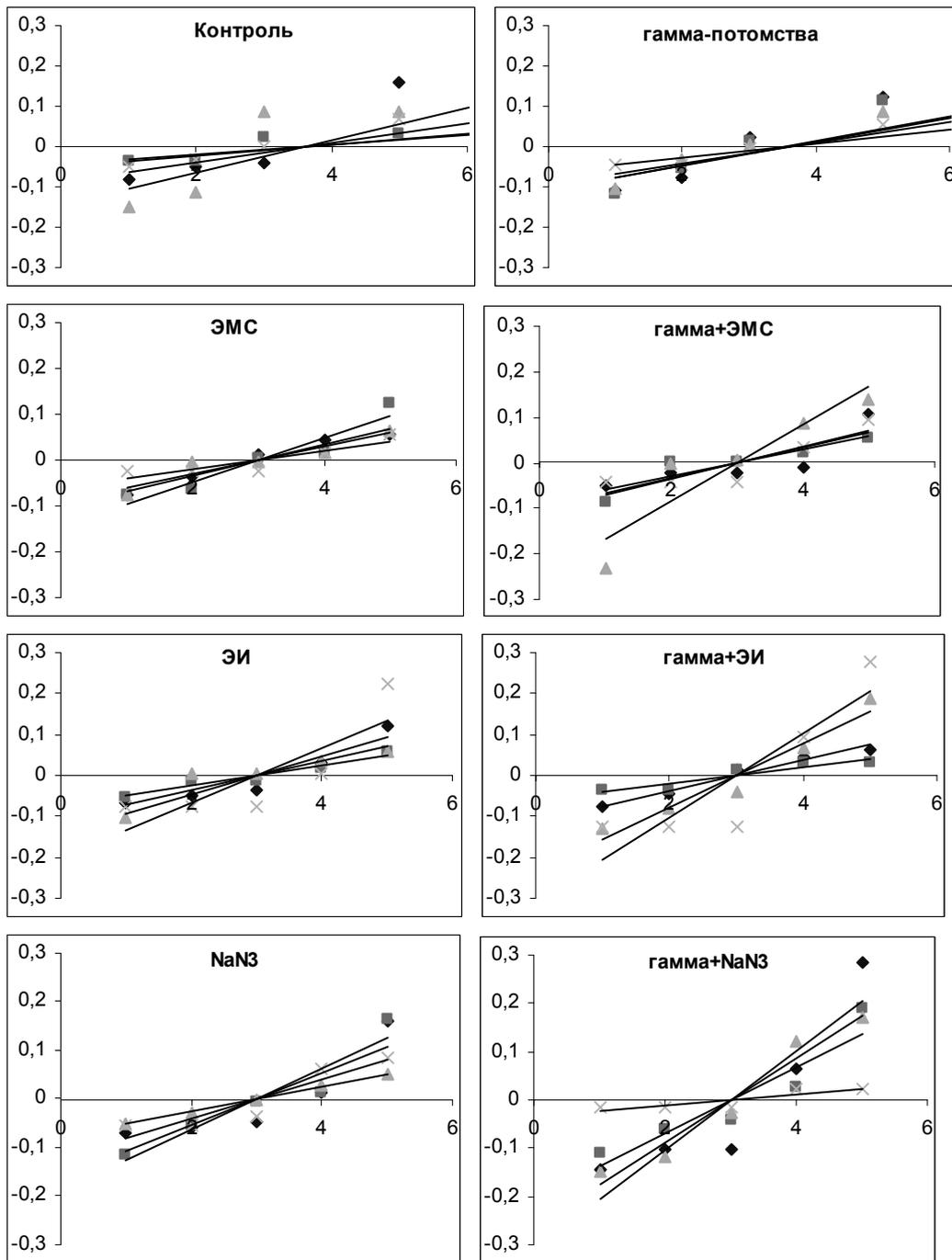


Рис. 3. Выживаемость растений мутантных потомств *Festuca pratensis*, выраженная в отклонениях значений от средней арифметической:

◆ – фертильность пыльцы; ■ – всхожесть; ▲ – частота выживших растений; × – частота растений, достигших репродуктивного развития. По оси ординат – отклонения от средних значений признаков; по оси абсцисс – номер ранга значения признака

отношении их природы: химические и физические мутагены, так и способа их использования – простое и комбинированное действие) у многолетних перекрестноопыляющихся злаков на примере *Festuca pratensis* Huds. показал их высокую генетическую продуктивность и выраженную нестабильность результатов от

поколения к поколению. Существенное влияние на частоту пигментных мутаций оказывает элиминация растений в ранних мутантных поколениях, а переход мутаций в гомозиготное состояние вызывает в свою очередь снижение выживаемости в более поздних поколениях. Общая выживаемость панмиктических попу-

Таблица 7. Выживаемость растений *Festuca pratensis* в M_3 - M_5 -мутантных потомствах на разных этапах онтогенеза

Признак	Мутантные потомства							
	контроль	γ -потомство	ЭМС-	γ + ЭМС-	ЭИ-	γ + ЭИ-	NaN ₃ -	γ + NaN ₃
M_3-потомство								
Фертильность пыльцы	0,86	0,69	0,82	0,91	0,96	0,85	0,91	0,92
Всхожесть семян	0,88	0,90	0,89	0,89	0,88	0,86	0,88	0,88
Частота выживших проростков	0,69	0,70	0,76	0,63	0,74	0,58	0,77	0,61
Частота растений, достигших репродуктивного развития	0,95	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Общая выживаемость	0,50	0,43	0,55	0,51	0,63	0,42	0,62	0,49
M_4-потомство								
Фертильность пыльцы	0,89	0,89	0,95	0,88	0,94	0,94	0,90	0,88
Всхожесть семян	0,94	0,73	0,97	0,78	0,88	0,84	0,94	0,86
Частота выживших проростков	0,69	0,66	0,81	0,77	0,77	0,81	0,85	0,81
Частота растений, достигших репродуктивного развития	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Общая выживаемость	0,58	0,43	0,75	0,53	0,64	0,64	0,72	0,61
M_5-потомство								
Фертильность пыльцы	0,85	0,92	0,91	0,88	0,93	0,91	0,89	0,88
Всхожесть семян	0,94	0,96	0,96	0,80	0,92	0,91	0,66	0,63
Частота выживших проростков	0,69	0,78	0,83	0,68	0,72	0,70	0,79	0,66
Частота растений, достигших репродуктивного развития	0,88	0,92	0,96	0,92	0,70	0,60	0,88	0,96
Общая выживаемость	0,49	0,63	0,70	0,44	0,43	0,35	0,41	0,35
Общая выживаемость (среднее по 3 генерациям)	0,52	0,50	0,67	0,49	0,57	0,47	0,58	0,48
Относительная выживаемость (контроль) (среднее по 3 генерациям)	1	0,96	1,29	0,94	1,10	0,90	1,12	0,92

ляций, представленная частотами жизнеспособных особей на разных этапах онтогенетического развития, выше у мутантных потомств, сформированных на основе действия химических мутагенных агентов, чем у потомств, сформированных на основе комбинированного их действия с γ -радиацией. Величины относительной выживаемости указывают на развитие компенсационных реакций, обеспечивающих повышенную выживаемость растений, только у потомств, сформированных на основе действия химических мутагенных агентов. Стабилизирующий отбор действует более жестко в отношении всех компонентов выживаемости мутантных потомств, сформированных на основе простой обработки семян химическими мутагенами, γ -потомства характеризуются наиболее жестким давлением стабилизирующего отбора. Полученные в настоящем исследовании данные дополняют и углубляют теоретические представления о роли генофондов и условий произрастания в выживаемости растительных популяций и расширяют возможности направленной селекции.

Литература

Айвазян С. А., Енюков И. С., Мешалкин Л. Д. Прикладная статистика. Исследование зависимостей. М., 1985. 472 с.

Алексеева Е. С., Парок В. А. Закономерности мутационного процесса у гречихи // Тез. докл. 1-го Всесоюз. радиобиол. съезда (Москва, 21–27 авг., 1989 г.). Пушино, 1989. Т. 5. С. 1169–1170.

Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях. М.: Академкнига, 2003. 431 с.

Ахунд-Заде А. И., Хвостова В. В. Цитогенетический анализ мутагенного эффекта ионизирующей радиации и алкилирующих соединений у гороха // Генетика. 1966. № 6. С. 47–54.

Будяк В. Т. Использование химических мутагенов для создания перспективного исходного материала ковра безостого (*Bromus inermis* Leyss.) // Химический мутагенез и селекция. М., 1971. С. 327–333.

Валев С. А. Принципы и методы применения радиации в селекции растений. М.: Атомиздат, 1967. 87 с.

Гостимский С. А., Хартина Г. А., Багрова А. М. Селекция гороха на высокую комбинационную способность на фоне полуплетального рецессивного гена хлорофильной недостаточности // Докл. АН СССР. 1987. Т. 294, № 5. С. 1228–1232.

Зайцев Г. Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.

Калам Ю., Орав Т. Хлорофильная мутация. Таллин: Валгус, 1974. 60 с.

Кох О. Microsoft Excel 5.0. СПб.: ВНВ-Санкт-Петербург, 1994. 270 с. (Koch O. MS Excel 5.0. ВНВ-Verlag, 1994. 270 s.)

Кремина А. А., Кулешов Г. Ф. Создание стерильных линий ежи сборной на основе источников стерильности, индуцированных химическими мутагенами

ми // Улучшение культурных растений и химический мутагенез. М., 1982. С. 210–215.

Найлэн Р. А. Природа индуцированных мутаций у высших растений // Генетика. 1967. № 3. С. 3–21.

Олимпиев Г. С., Павлова Н. А. Радиобиологический критерий в мутационной селекции растений: адаптивные радиобиологические реакции при индуцированном мутагенезе // Вопросы генетики и селекции многолетних злаков. Петрозаводск, 1990. С. 35–43.

Орав Т., Шаньги-Березовский Г., Орав И. Радиационный мутагенез и модифицирующие его условия. Таллин, 1972. 198 с.

Писковацкий Ю. М. Использование химических мутагенов в селекции ежи сборной // Кормопроизводство. Вып. 11. М., 1975. С. 162–167.

Сидорова К. К. Хлорофильные мутации как показатель различий в мутабельности сортов гороха // Генетика. 1966. № 6. С. 81–87.

Струнников В. А. Возникновение компенсационного комплекса генов – одна из причин гетерозиса // Журн. общей биол. 1974. Т. 35. № 5. С. 666–677.

Тимофеев-Ресовский Н. В., Воронцов Н. Н., Яблоков А. В. Краткий очерк теории эволюции. М., 1977. 297 с.

Шмальгаузен И. И. Проблемы дарвинизма. Л.: Наука, 1969. 494 с.

Blizt S. Mutation induction in *Phleum* // *Agri Hortique Genetica*. Landstryck, 1976. Vol. 34. P. 58–82.

Blizt S., Ehrenberg L., Gelin O. Studies of induced mutation in peas. VII. Mutation spectrum and mutation rate of different mutagenic agents // *Agr. Hort. Genet.* 1963. Vol. 21. P. 178–216.

Collins J. L. A low temperature type of albinism in barley // *J. Heredity*. 1937. Vol. 18. P. 331–334.

Drozdová A. I. Proměnlivost výnosových a jakostních ukazatelů u kostřavy luční (*Festuca pratensis* Huds.) a

její ovlivnění N-metyl-N-nitrozomochovinou (NMM) // *Aut. dis. kand. zem.-lesn. věd.* Brno, 1985. 20 с.

Ehrenberg L., Gustafsson A., Lundqvist U. Viedle mutante induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens // *Hereditas*. 1961. Vol. 47. P. 243.

Gaul H. Mutations in plant breeding // *Radiat. Bot.* 1964. Vol. 4. P. 155–232.

Gustafsson A. Productive mutations induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens // *Hereditas*. 1963. Vol. 50. P. 211–263.

Hallquist C. Chlorophyllmutanten bei Gerste // *Hereditas*. 1924. Vol. 5. P. 49–83.

Hänsel H. Beobachtungen über albinotische und virescente Chlorophyllaberranten und deren Nachkommen bei Gerste (*Hordeum vulgare* convar. *distichon*). // *Z. für. Vererbungslehre*. 1960. Vol. 91. P. 358–372.

Heiner E., Konsak C. F., Nilan R. A., Legault R. R. Diverse ration of mutation to chromosome aberration in barley treated with diethyl sulphate and gamma rays // *Proc. nat Acad. Sci. USA*. 1960. Vol. 46. P. 1215–1221.

Heringa R. Mutation research in peas // *Euphytica*. 1964. Vol. 13. P. 330–336.

Lefort M. Etude de quelques mutants chlorophylliness induits chez *Lycopersicum esculentum* Mill. // *Revue de cytologie et de biologie vegetales*. 1959. Vol. 20. P. 3–144.

Nilan R. A., Konzak C. F. Increasing the efficiency of mutation induction // *Mut. and Plant Breed.* Washington, 1961. 437 p.

Nybohm N. The pigment characteristics of chlorophyll mutations in barley // *Hereditas*. 1955. Vol. 41. P. 483–498.

Samson L., Cairns J. A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli* // *Nature*. 1977. Vol. 267. P. 281–283.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Лебедева Ольга Николаевна

зам. директора по научной работе, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: lebedeva@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 774682

Николаевская Татьяна Сергеевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nikol@bio.krc.karelia.ru
тел.: (8142) 573107

Титов Александр Федорович

председатель КарНЦ РАН, чл.-корр. РАН, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: krcras@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 769710

Lebedeva, Olga

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: lebedeva@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 774682

Nikolaevskaya, Tatyana

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nikol@bio.krc.karelia.ru
tel.: (8142) 573107

Titov, Alexandr

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: krcras@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 769710

УДК 581.1

РОЛЬ ЛИПИДОВ В УСТОЙЧИВОСТИ СЕМЯДОЛЬНЫХ ЛИСТЬЕВ ОГУРЦА К ПОСТОЯННОМУ И КРАТКОВРЕМЕННОМУ ПЕРИОДИЧЕСКОМУ ДЕЙСТВИЮ НИЗКОЙ ЗАКАЛИВАЮЩЕЙ ТЕМПЕРАТУРЫ

**Е. Ф. Марковская, Е. Г. Шерудило, П. О. Рипатти,
М. И. Сысоева**

Институт биологии Карельского научного центра РАН

Изучали шестисуточное влияние кратковременного (2 ч в конце ночи – ДРОП) и постоянного в течение суток (ПНТ) снижения температуры до 12 °С на изменение содержания липидов, жирных кислот и холодоустойчивость растений огурца (*Cucumis sativus* L.) на ранних этапах онтогенеза. Сравнение растений опытных вариантов с контрольными выявило различия в реакции семядольных листьев на уровне липидной составляющей мембран при ДРОП и ПНТ. Постоянное действие температуры 12 °С повышало холодоустойчивость семядольных листьев и увеличивало содержание общих липидов и жирных кислот без существенных изменений относительного содержания ненасыщенных и насыщенных жирных кислот. При кратковременном действии температуры 12 °С более высокий уровень холодоустойчивости сопровождался уменьшением содержания общих липидов и жирных кислот на фоне увеличения их ненасыщенности за счет повышения содержания линоленовой кислоты. Высказана гипотеза о том, что значительный рост холодоустойчивости семядольных листьев огурца при ДРОП воздействию связан с ежесуточной периодической индукцией одной из ω -3 десатураз, что обеспечивает повышенный синтез линоленовой кислоты.

Ключевые слова: *Cucumis sativus*, семядольные листья, низкая температура, холодоустойчивость, липиды, жирные кислоты.

**E. F. Markovskaya, E. G. Sherudilo, P. O. Ripatti, M. I. Sysoeva.
ROLE OF LIPIDS IN RESISTANCE OF CUCUMBER COTYLEDONS TO
CONTINUOUS AND SHORT-TERM PERIODIC EFFECT OF LOW HARDENING
TEMPERATURES**

We investigated the 6-day effect of short-term (2 h at the end of the night – DROP) and continuous all-day (CLT) temperature reduction to 12 °C on lipid and fatty acid content, and cold resistance in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants at early stages of the ontogeny. Comparison of plants from the experiments to the control revealed differences in the response of cotyledons exposed to DROP and CLT at the level of the membrane lipid component. Continuous exposure to a temperature of 12 °C promoted cold resistance of cotyledons and raised total lipid and fatty acid content without changing the proportions of unsaturated and saturated fatty acids any significantly. At short-term exposure to 12 °C, the considerably higher cold resistance was accompanied by a decrease in total lipids and fatty acids, while their unsaturation increased owing to a rise in linolenic acid

content. It is hypothesized that significant enhancement of cold resistance in cucumber cotyledons under DROP is related to daily periodic induction of one of ω -3-desaturases, which facilitates increased synthesis of linolenic acid.

Key words: *Cucumis sativus*, cotyledons, low temperature, cold resistance, lipids, fatty acids.

Введение

Вопрос о роли липидов в формировании холодоустойчивости растений широко обсуждается в литературе [Lyons, 1973; Raison, 1973; Александров, 1975, 1985; Browse, Xin, 2001; Iba, 2002; Трунова, 2007; Upchurch, 2008]. Предложенная более 30 лет назад гипотеза [Lyons, 1973; Raison, 1973] связывает адаптацию растений к неблагоприятным температурам со способностью мембранных липидов к фазовым переходам посредством изменения количества ненасыщенных жирных кислот. Это показано в многочисленных исследованиях о влиянии низких закаливающих и повреждающих температур на холодоустойчивые виды [Lyons, 1973; de la Roche et al., 1975; Lynch, Steponkus, 1987; Новицкая и др., 1990; Шаяхметова и др., 1990 и др.] и повреждающем действии низких положительных температур на теплолюбивые растения [Новицкая и др., 1999, 2000; Новицкая, Трунова, 2000]. Значительно меньше данных о роли липидов в реакциях теплолюбивых растений на действие низких закаливающих температур, индуцирующих увеличение холодоустойчивости [Wilson, Grawford, 1974; Нюппиева, Маркова, 1988; Климов и др., 1996], и они зачастую носят противоречивый характер. Исследование двух типов воздействия низкой закаливающей температуры (постоянного и кратковременного периодического) на проростки огурца показало, что растения реагируют на оба воздействия повышением холодоустойчивости [Марковская и др., 2000]. При этом величина прироста устойчивости у растений в ходе постоянного многосуточного закаливания при температуре 12 °C была в 3 раза ниже, чем у растений после ежесуточного, но кратковременного действия той же температуры. Дальнейшее изучение феноменологии, моделирование процесса формирования холодоустойчивости, а также опыты по последствию указанных температурных режимов позволили высказать предположение, что механизмы формирования устойчивости растений в условиях постоянного и кратковременного ежесуточного действия низкой температуры различны [Марковская и др., 2008].

Целью настоящей работы было выяснение роли липидов в формировании холодоустойчивости семядольных листьев теплолюбивого растения огурца при разных способах воздействия на растение низких закаливающих температур.

Материал и методы

Семена огурца (*Cucumis sativus* L., гибрид Зозуля) проращивали в чашках Петри в термостате при 28 °C в течение суток, затем высаживали в вазоны с песком (полив питательным раствором Кнопа с добавлением микроэлементов, pH 6,2–6,4) и помещали в камеры искусственного климата. Относительная влажность воздуха составляла 60–70 %, интенсивность света 100 Вт/м² при освещении лампами ДРЛ-400 и 12 ч фотопериода. До начала эксперимента растения выращивали в оптимальных условиях: 2 сут при 30 °C до выноса семядолей над поверхностью субстрата и 2 сут при 23 °C до полного раскрытия семядолей. По достижении фазы полностью раскрытых семядолей растения подвергали в течение 6 сут низкотемпературным обработкам: выращивали при постоянной суточной температуре 12 °C (вариант постоянной низкой температуры – «ПНТ») или ежесуточно снижали температуру до 12 °C на 2 ч в конце ночи путем перестановки растений между камерами (вариант кратковременных ежесуточных снижений температуры – «ДРОП»). Растения контрольного варианта оставались при температуре 20 °C на протяжении всего эксперимента. Для анализа ежесуточно брали образцы семядольных листьев у растений всех вариантов опыта.

Холодоустойчивость растений определяли при помощи метода ЛТ₅₀ на семядольных листьях [Дроздов и др., 1976]. При этом о приросте устойчивости судили по разнице между температурой, вызывающей гибель клеток в высечках опытных и контрольных растений.

Для исследования жирных кислот (ЖК) взвешенные образцы листьев фиксировали в течение 5 мин кипящим 80%-м этиловым спиртом. После упаривания этанола липиды экстрагировали смесью хлороформа с метанолом [Folch et al., 1957], отмывали от нелипидных компонентов и высушивали до постоянного веса над

фосфорным ангидридом, взвешивали и проводили прямую переэтерификацию жирных кислот в растворе метанола с хлористым ацетилом [Цыганов, 1971]. Полученные метиловые эфиры анализировали методом газожидкостной хроматографии на капиллярных колонках ZB-FFAP длиной 50 м, с внутренним диаметром 0,32 мм и толщиной слоя жидкой фазы 0,50 мкм при температуре 225°. Количественное определение ЖК проводили с помощью внутреннего стандарта – известного количества бегеновой кислоты, добавляемой к раствору липидов. Идентификацию ЖК осуществляли сравнением хроматографических подвижностей со стандартными ЖК.

Опыты выполнены в шести- (определение холодоустойчивости) и трехкратной (анализ липидов) биологических повторностях. Данные обработаны статистически с использованием пакета программ Statgraphics for Windows 7.0.

Результаты и обсуждение

Увеличение холодоустойчивости семядольных листьев проростков огурца в обоих вариантах низкотемпературного воздействия начиналось со вторых суток (рис. 1). Однако при постоянном действии низкой закаливающей температуры (вариант ПНТ) максимальный уровень холодоустойчивости достигался к началу третьих суток, а при кратковременном (вариант ДРОП) – на пятые сутки опыта, причем по окончании эксперимента прирост холодоустойчивости у растений варианта ДРОП был в 3 раза выше, чем у растений варианта ПНТ (рис. 1).

Анализ изменения содержания общих липидов семядольных листьев огурца показал, что у растений, подвергнутых постоянному действию низкой температуры 12 °С, к концу опыта оно возросло на 69 %, тогда как у контрольных

растений и в случае кратковременного воздействия низких температур, напротив, снизилось от первоначального уровня на 22 % и 40 %, соответственно (табл.). Сумма жирных кислот общих липидов в ходе эксперимента претерпела аналогичные изменения: в варианте ПНТ суммарное количество жирных кислот к концу опыта возросло на 28 %, а в варианте ДРОП и у контрольных растений – снизилось на 46 % от первоначального значения (табл.).

Содержание основных ЖК – пальмитиновой 16:0, стеариновой 18:0, олеиновой 18:1(n-9), линолевой 18:2(n-6) и линоленовой 18:3(n-3) – приведено в таблице. Суммарное содержание обеих названных полиеновых ЖК в течение всего опыта оставалось практически на одном уровне во всех вариантах, составляя около 70 % от общего количества ЖК, что согласуется с известными литературными данными для огурца [Новицкая и др., 1999], однако динамика этих ЖК в различных вариантах опыта существенно различалась. На фоне снижения содержания ЖК выявлено стабильное возрастание относительной концентрации линоленовой кислоты в контроле и варианте ДРОП, достигающей к концу опыта 60 % суммы всех ЖК (рис. 2), тогда как содержание линолевой кислоты в этих вариантах падало до 10 % (рис. 3). При постоянном воздействии пониженной температуры 12 °С содержание этих кислот сохранялось практически неизменным – 45–50 % для 18:3(n-3) и около 25 % для 18:2(n-6).

Настоящая работа выполнена на формирующихся семядольных листьях огурца. Особенностью данного периода развития растений огурца является наличие смешанного типа питания (гетеротрофного и автотрофного), характеризующегося, с одной стороны, активным расходом запасных веществ, включая липиды, а с другой – использованием

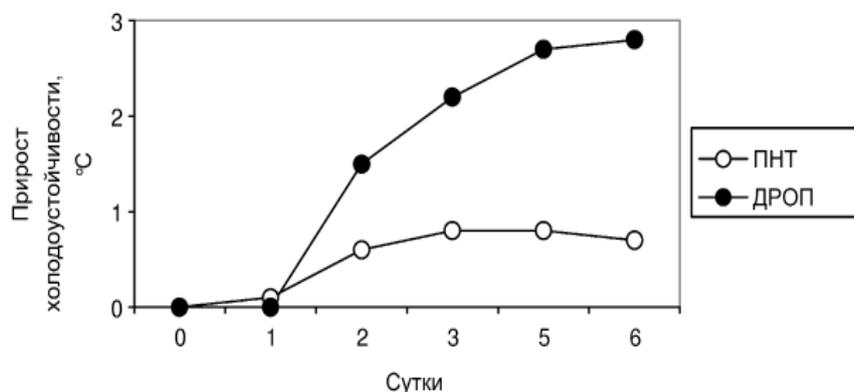


Рис. 1. Динамика прироста холодоустойчивости семядольных листьев огурца при ежесуточном кратковременном (ДРОП) и постоянном (ПНТ) действии закаливающей температуры 12 °С

Динамика содержания общих липидов и основных жирных кислот (ЖК) семядольных листьев огурца в контроле, при ежесуточном кратковременном (ДРОП) и постоянном (ПНТ) действии закаливающей температуры 12 °С

Вариант опыта	Время, сутки	Содержание липидов, мг/г	Содержание жирных кислот, мг/г					18:3(n-3)/18:2(n-6)	
			Сумма ЖК	16:0	18:0	18:1(n-9)	18:2(n-6)		18:3(n-3)
Контроль	0	10,1	5,7	0,9	0,3	0,2	1,3	2,6	2,0
	1	12,2	5,6	0,9	0,3	0,2	1,4	2,5	1,8
	2	7,9	5,8	0,8	0,3	0,2	1,2	2,9	2,4
	3	9,5	4,2	0,6	0,2	0,1	0,6	2,4	4,0
ДРОП	6	9,5	3,0	0,4	0,1	0,1	0,3	1,8	6,0
	0	10,1	5,7	0,9	0,3	0,2	1,3	2,6	2,0
	1	15,2	7,0	1,0	0,4	0,3	2,0	2,8	1,4
	2	7,4	4,5	0,6	0,2	0,1	0,6	2,6	4,1
ПНТ	3	11,3	1,9	0,3	0,1	0,1	0,2	1,2	6,0
	6	7,3	3,1	0,5	0,1	0,1	0,3	1,9	6,4
	0	10,1	5,7	0,9	0,3	0,2	1,3	2,6	2,0
	1	9,5	6,2	0,9	0,3	0,2	1,8	2,7	1,5
ПНТ	2	14,4	5,5	0,7	0,4	0,3	1,4	2,3	1,7
	3	19,3	5,4	0,8	0,2	0,1	1,4	2,6	1,9
	6	20,5	7,1	1,0	0,4	0,3	1,7	3,3	1,9

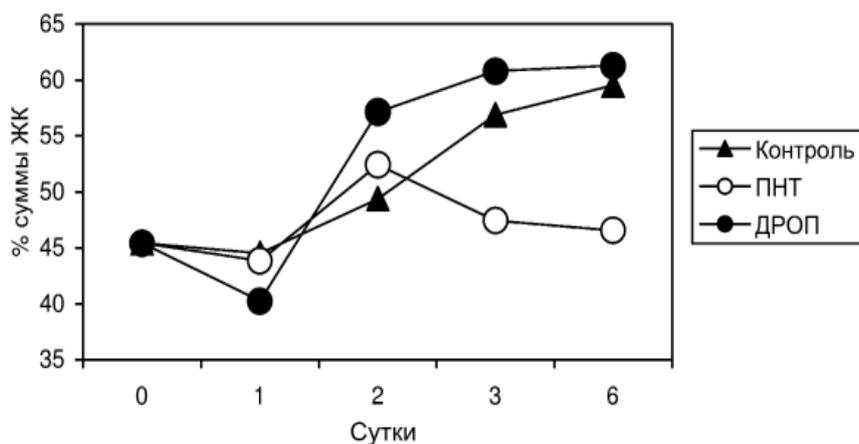


Рис. 2. Динамика содержания линоленовой кислоты 18:3(n-3) общих липидов семядольных листьев огурца в контроле, при ежесуточном кратковременном (ДРОП) и постоянном (ПНТ) действии закаливающей температуры 12 °С

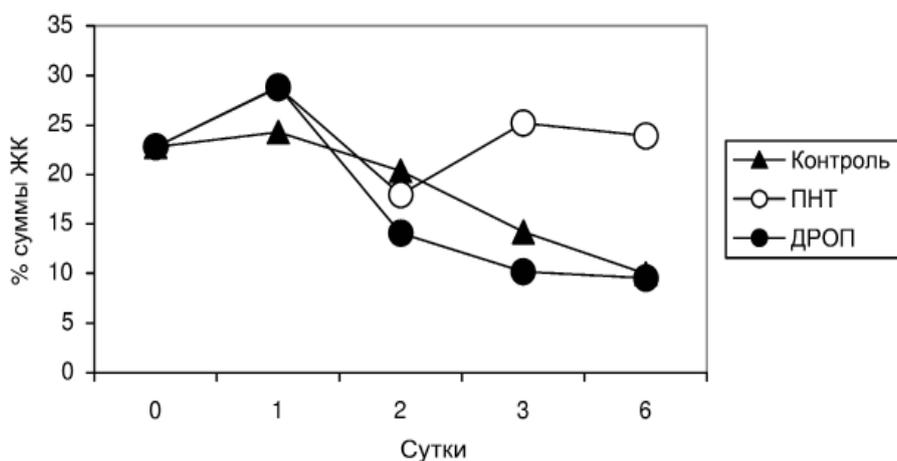


Рис. 3. Динамика содержания линолевой кислоты 18:2(n-2) общих липидов семядольных листьев огурца в контроле, при ежесуточном кратковременном (ДРОП) и постоянном (ПНТ) действии закаливающей температуры 12 °С

новых ассимилятов развивающихся семядольных листьев. Именно с этим, по-видимому, может быть связано снижение количества общих липидов и ЖК у контрольных растений на протяжении шести суток опыта. Однако при этом в контроле отмечено возрастание степени ненасыщенности жирных кислот при сохранении неизменного уровня суммы ПНЖК, о чем свидетельствует увеличение в ходе эксперимента отношения 18:3(n-3)/18:2(n-6) (табл.).

Увеличение степени ненасыщенности жирных кислот в процессе развития листа связывают с биогенезом хлоропластов, мембраны тилакоидов которых отличаются высокой (до 85–90 %) степенью полиненасыщенности [Murphy, 1986]. Подтверждение фундаментальной роли высокого уровня полиненасыщенности липидов мембран хлоропластов в биогенезе хлоропластов было получено и при сравнении роста и развития растения *Arabidopsis thaliana* L. и его мутантов, дефектных по синтезу десатураз, в условиях оптимальной и низкой температур: дефицит ненасыщенных жирных кислот у мутантов приводил к недоразвитости ультраструктуры хлоропластов и хлорозу листьев в оптимуме и при низких температурах [Hugly et al., 1989; Hugly, Somerville, 1992].

У опытных растений при постоянном действии низкой температуры (ПНТ) на протяжении шести суток отмечено возрастание содержания общих липидов и жирных кислот (табл.). Холодоустойчивость растений этого варианта начинала повышаться на вторые и достигала максимума на третьи сутки опыта (рис. 1), что сопровождалось увеличением содержания общих липидов и ЖК (табл.). При этом относительная концентрация линолевой кислоты падала, а линоленовой – возрастала на вторые сутки, после чего этот показатель медленно возвращался к исходным значениям. В контрольном и ДРОП вариантах наблюдалось стабильное уменьшение относительного содержания 18:2(n-6) (рис. 3) и столь же стабильное увеличение относительной концентрации 18:3(n-3) (рис. 2), причем в случае периодического холодого воздействия эти процессы протекали более эффективно. Из литературы хорошо известно, что линоленовая кислота не только защищает растительные клетки от холодого повреждения [Graham, Patterson, 1982], но и, являясь необходимым компонентом фотосинтетического аппарата, способствует его функционированию при низкой температуре [de la Roche et al., 1972; St. John et al., 1979; Laskay, Lehoczki, 1986; Kodama et al., 1994; Wada et al., 1994; Routaboul et al., 2000; Ariizumi et al., 2002; Lee et al., 2005]. Так, увеличение содержания линоленовой кислоты

(18:3) позволяло трансгенным растениям томата с повышенной экспрессией гена ω -3 десатурации жирных кислот поддерживать высокую скорость выделения O_2 , большую по сравнению с диким типом фотохимическую активность и препятствовало низкотемпературному фотоингибированию фотосистем I и II [Liu et al., 2008]. Кроме того, при постоянном действии низкой температуры на проростки огурца синтез линолевой кислоты 18:2(n-6), являющейся также одним из компонентов низкотемпературной адаптации растений [Murata, Los, 1997; Лось, 2001], поддерживался на постоянном уровне. Соотношение содержания линоленовой кислоты к линолевой 18:3(n-3)/18:2(n-6) рассматривают в качестве показателя нормального развития растений, и, как было показано на растениях ячменя, в этом случае оно должно быть не менее 2 [Laskay, Lehoczki, 1986]. В нашей работе в ходе шести суток опыта у растений варианта ПНТ этот показатель находился на уровне менее 2 (1,8–1,9, за исключением его подъема до 2,9 на вторые сутки), подтверждая отсутствие значительных изменений степени ненасыщенности жирных кислот липидов у теплолюбивого растения огурца при длительном низкотемпературном воздействии [Wilson, Crawford, 1974; Pike et al., 1990; Новицкая и др., 1999; Новицкая, Трунова, 2000; Erez et al., 2002]. Таким образом, увеличение содержания общих липидов и ЖК на фоне ингибирования ростовых процессов, по-видимому, свидетельствует об участии липидной составляющей, прежде всего, в повышении холодоустойчивости семядольных листьев огурца при постоянном действии низкой закаливающей температуры. С другой стороны, низкая температура препятствует образованию линоленовой кислоты 18:3(n-3) в количествах, необходимых для нормального развития фотосинтетического аппарата и обеспечения активного роста и синтеза других необходимых веществ [Routaboul et al., 2000].

Динамика содержания липидов у растений ДРОП-варианта была сходной с контролем и выражалась в постоянном снижении общих липидов и ЖК (табл.). Состав ЖК также менялся аналогично контролю, несколько превышая его по количеству синтезированной линоленовой кислоты 18:3(n-3) (табл.). Соответственно и отношение содержания линоленовой кислоты к линолевой 18:3(n-3)/18:2(n-6) на протяжении опыта было выше, чем в контроле, что, по-видимому, может быть связано с возрастанием активности процесса ω -3 десатурации линолевой кислоты. В работе Сузуки с соавторами [Suzuki et al., 2000] на трансформированных клетках цианобактерии *Synechocystis* sp.

РСС 6803 с введенным в ее геном геном люциферазы под контролем промотора одной из ω -3 десатураз была показана активация этого промотора при понижении температуры, что приводило к усилению свечения клеток с максимумом через 3–4 ч. Эти данные позволяют предполагать, что значительное увеличение линоленовой кислоты у растений, ежедневно подвергаемых двухчасовому снижению температуры (ДРОП), может быть связано с периодической индукцией одной из ω -3 десатураз. Высказанная гипотеза подтверждается и сходством временных параметров этих процессов.

Известно, что увеличение количества линоленовой кислоты обеспечивает не только более высокий уровень фотосинтетических процессов, но и повышение холодоустойчивости [Hugly, Somerville, 1992; Routaboul et al., 2000; Liu et al., 2008], а также общей резистентности растений [Matsuda, Iba, 2005]. Ранее нами было показано, что при кратковременном низкотемпературном воздействии (ДРОП) на растения одновременно с повышением устойчивости к холоду возрастает устойчивость к теплу и действию патогена [Марковская и др., 2008], что свидетельствует о повышении общей резистентности организма.

После ДРОП-воздействия, особенностью которого является периодическая смена в течение суток низкой закаливающей и оптимальной температуры, растения, наряду с повышенной холодоустойчивостью, отличаются и высокой функциональной активностью [Марковская и др., 2008]. Факт увеличения устойчивости этиолированных проростков огурца при прерывистом действии низкой температуры, сопровождающегося в последующий тепловой период возрастанием содержания жирных кислот, особенно линоленовой кислоты, установлен в работе Эреза с соавторами [Erez et al., 2002]. В опытах на арабидопсисе *Arabidopsis Col-0* было отмечено, что кратковременное шестичасовое воздействие низкой температуры привело к более широкому спектру физиологических и биохимических изменений, чем длительное 78-часовое [Usadel et al., 2008].

Полученные нами, а также литературные данные позволяют предполагать, что значительное повышение холодоустойчивости семядольных листьев и высокая активность ростовых процессов у растений огурца, подвергнутых ежедневным кратковременным низкотемпературным обработкам, могут быть связаны с ежедневной периодической индукцией одной из ω -3 десатураз, что обеспечивает повышенный синтез именно линоленовой кислоты. Однако это не исключает участия и других механизмов.

Если реакция растений на постоянное много-суточное действие низкой температуры носит классический характер, описанный в литературе, – ингибирование ростовых процессов, повышение холодоустойчивости, увеличение содержания общих липидов, то реакция растений на кратковременные периодические воздействия является неожиданной – активный рост растений, более высокий уровень устойчивости, уменьшение содержания общих липидов, постоянный уровень ПНЖК с увеличением доли линоленовой кислоты. Кроме того, как было показано нами ранее, наряду с увеличением устойчивости, эти растения накапливали большую, чем в контроле, биомассу [Марковская и др., 2008], т. е. находились в состоянии повышенной жизнедеятельности [Веселовский и др., 1993; Марковская и др., 2008]. В большинстве литературных источников действие низкой положительной температуры на теплолюбивые виды рассматривается как неблагоприятное [Жученко, 1988]. Однако растения, в том числе и теплолюбивые, в природе достаточно часто подвергаются кратковременным неблагоприятным воздействиям и, следовательно, должны обладать быстрыми регуляторными механизмами для их успешного преодоления. Растения огурца ДРОП-варианта показали возможность повышения жизнедеятельности в ответ на кратковременные неблагоприятные воздействия. Можно предположить, что одним из участников этих процессов является липидная составляющая мембранных систем клетки, в том числе фракции линоленовой кислоты.

Проведенные исследования показали, что имеются существенные различия в реакции семядольных листьев растений огурца на постоянное и кратковременное ежедневное низкотемпературное воздействие на уровне липидной составляющей мембран. В системную реакцию растительного организма на постоянное низкотемпературное воздействие включена в основном вся исследованная нами липидная фракция, а на кратковременное периодическое – главным образом только одна из ее составляющих – линоленовая кислота.

Авторы выражают искреннюю благодарность Л. В. Марковой за помощь в проведении биохимических анализов. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 07-04-00063).

Литература

Александров В. Я. Клетки, макромолекулы и температура. Л.: Наука, 1975. 330 с.

- Александров В. Я. Реактивность клеток и белки. Л.: Наука, 1985. 318 с.
- Веселовский В. А., Веселова Т. В., Чернавский Д. С. Стресс у растений: (Биофизический подход). М.: МГУ, 1993. 144 с.
- Дроздов С. Н., Курец В. К., Будыкина Н. П., Балагурова Н. И. Определение устойчивости растений к заморозкам // Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды. Л.: Колос, 1976. С. 222–228.
- Жученко А. А. Адаптивный потенциал культурных растений: (Эколого-генетические основы). Кишинев: Штиинца, 1988. 768 с.
- Климов С. В., Астахова Н. Б., Бочарова М. А., Трунова Т. И. Различия в холодостойкости томата и огурца связаны с низкотемпературной устойчивостью фотосинтеза и характером углеводного метаболизма // Физиология растений. 1996. Т. 43. С. 906–254.
- Лось Д. А. Структура, регуляция экспрессии и функционирование десатураз жирных кислот // Успехи биологической химии. 2001. Т. 41. С. 163–198.
- Марковская Е. Ф., Сысоева М. И., Харькина Т. Г., Шерудило Е. Г. Влияние кратковременного снижения ночной температуры на рост и холодостойкость растений огурца // Физиология растений. 2000. Т. 47, № 4. С. 511–515.
- Марковская Е. Ф., Сысоева М. И., Шерудило Е. Г. Феномен ежесуточного кратковременного влияния низких закаливающих температур на жизнедеятельность растения // Онтогенез. 2008. Т. 39, № 5. С. 323–332.
- Новицкая Г. В., Астахова Н. В., Суворова Т. А., Трунова Т. И. Роль липидной компоненты мембран в устойчивости теплолюбив к низкой температуре // Физиология растений. 1999. Т. 46. С. 537–543.
- Новицкая Г. В., Сальникова Е. Б., Суворова Т. А. Изменение ненасыщенности жирных кислот липидов растений озимой и яровой пшеницы в процессе закаливания // Физиология и биохимия культ. растений. 1990. Т. 22. С. 257–264.
- Новицкая Г. В., Суворова Т. А., Трунова Т. И. Липидный состав листьев в связи с холодостойкостью растений томатов // Физиология растений. 2000. Т. 47, № 6. С. 829–835.
- Новицкая Г. В., Трунова Т. И. Связь холодостойкости растений с содержанием липидов мембран хлоропластов // ДАН. 2000. Т. 371, № 2. С. 258–260.
- Нюппиева К. А., Маркова Л. В. Адаптивные изменения в липидах листьев огурца, картофеля и овсяницы луговой при холодовом закаливании растений // Физиология и биохимия культ. растений. 1988. Т. 20, № 6. С. 68–72.
- Трунова Т. И. Растение и низкотемпературный стресс. М.: Наука, 2007. 54 с.
- Цыганов Э. П. Метод прямого метилирования липидов после ТСХ без элюирования с силикагеля // Лабораторное дело. 1971. № 8. С. 490–493.
- Шаяхметова И. Ш., Трунова Т. И., Цыдендамбаев В. Д., Верещагин А. Г. Роль липидов клеточных мембран в криокаливании листьев и узлов кущения озимой пшеницы // Физиология растений. 1990. Т. 37, № 6. С. 1186–1195.
- Ariizumi T., Kishitani S., Inatsugi R. et al. An increase in unsaturatuin of fatty acids in phosphatidyl; glycerol from leaves improves the rates of photosynthesis and growth at low temperatures in transgenic rice seedlings // Plant Cell Physiol. 2002. Vol. 43, N 7. P. 751–758.
- Browse J., Xin Z. Temperature sensing and cold acclimation // Curr. Opin. Plant Biol. 2001. Vol. 4. P. 241–246.
- De la Roche I. A., Andrews C. J., Pomeroy M. K. et al. Lipid changes in winter wheat seedlings (*Triticum aestivum*) at temperatures inducing cold hardening // Canad. J. Bot. 1972. Vol. 50, N 12. P. 2401–2409.
- De la Roche I. A., Pomeroy M. K., Andrews C. J. Changes in fatty acid composition in wheat cultivars of contrasting hardiness // Cryobiology. 1975. Vol. 12. P. 506–512.
- Erez A., Cohen E., Frenkel Ch. Oxygen-mediated cold-acclimation in cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings // Physiologia Plantarum. 2002. Vol. 115. P. 541–549.
- Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 226, N 5. P. 497–509.
- Graham D., Patterson B. D. Responses of plant to low? Non-freezing temperatures – proteins, metabolism, and acclimation // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1982. Vol. 33. P. 347–372.
- Hugly S., Kunst L., Browse J., Somerville C. Enhanced thermal tolerance of photosynthesis and altered chloroplast ultrastructure in a mutant of *Arabidopsis* deficient in lipid desaturation // Plant Physiol. 1989. Vol. 90. P. 1134–1142.
- Hugly S., Somerville C. R. A role of membrane lipid polyunsaturation in chloroplast biogenesis at low temperature // Plant Physiol. 1992. Vol. 99. P. 197–202.
- Iba K. Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance // Annu. Rev. Plant Biol. 2002. Vol. 53. P. 225–245.
- Kodama H., Hamada T., Horiguchi G. et al. Genetic enhancement of cold tolerance by expression of a gene for chloroplast ω -3 fatty acid desaturase in transgenic tobacco // Plant Physiol. 1994. Vol. 105. P. 601–605.
- Laskay G., Lehoczki E. Correlation between linolenic-acid deficiency in chloroplast membrane lipids and decreasing photosynthetic activity in barley // Biochim. Biophys. Acta. 1986. Vol. 849, N 1. P. 77–84.
- Lee S. H., Ahn S. J., Im Y. J. et al. Differential impact of low temperature on fatty acid unsaturation and lipoxygenase activity in figleaf gourd and cucumber roots? // Biochem Biophys. Res. Communication. 2005. Vol. 330, N 4. P. 1194–1198.
- Liu X.-Y., Li B., Yang J.-H. et al. Overexpression of tomato chloroplast omega-3 fatty acid desaturase gene alleviates the photoinhibition of photosystems 2 and 1 under chilling stress // Photosynthetica. 2008. Vol. 46, N. 2. P. 185–192.
- Lynch D. V., Steponkus P. L. Plasma membrane lipid alteration associated with cold acclimation of winter rye seedlings (*Secale cereale* L. cv Puma) // Plant Physiol. 1987. Vol. 83. P. 761–767.
- Lyons J. M. Chilling Injury in Plants // Annu. Rev. Plant Physiol. 1973. Vol. 24. P. 445–466.
- Matsuda O., Iba K. Trienoic fatty acids and stress responses in higher plants // Plant Biotechnology. 2005. Vol. 22. P. 423–430.

Murata N., Los D. A. Membrane fluidity and temperature perception // *Plant Physiol.* 1997. Vol. 115. P. 875–879.

Murphy D. J. The molecular organisation of the photosynthetic membranes of higher plants // *Biochimica et Biophysica Acta.* 1986. Vol. 864. P. 33–94.

Pike C. S., Norman H. A., Kemmerer E. C. et al. Effects of acclimation to low temperature and to water stress on photosynthesis and physical and chemical properties of lipids from thylakoids of cucumber and cotton // *Plant Science.* 1990. Vol. 68. P. 189–196.

Raison J. K. Temperature-induced phase changes in membrane lipids and their influence on metabolic regulation // *Symp. Soc. Exp. Biol.* 1973. Vol. 27. P. 485–512.

Routaboul J.-M., Fischer S. F., Browse J. Trienoic fatty acids are required to maintain chloroplast function at low temperatures // *Plant Physiology.* 2000. Vol. 124. P. 1697–1705.

St. John J. B., Christiansen M. N., Ashworth E. N., Genter W. A. Effect of BASF 13-388, a substituted

pyridazinone, on linolenic acid level and winterhardiness of cereals // *Crop Science.* 1979. Vol. 19. P. 65–69.

Suzuki I., Los D. A., Kanesaki Y. et al. The pathway for perception and transduction of low-temperature signals in *Synechocystis* // *EMBO J.* 2000. Vol. 19, N 6. P. 1327–1334.

Upchurch R. G. Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress // *Biotechnology Letters.* 2008. Vol. 30, N 6. P. 967–977.

Usadel B., Bläsing O. E., Gibon Y. et al. Multilevel genomic analysis of the response of transcripts, enzyme activities and metabolites in *Arabidopsis* rosettes to a progressive decrease of temperature in the non-freezing range // *Plant, Cell and Environmen.* 2008. Vol. 31, N 4. P. 518–547.

Wada H., Gombos Z., Murata N. Contribution of membrane lipids to the ability of the photosynthetic machinery to tolerate temperature stress // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. Vol. 91. P. 4273–4277.

Wilson J. M., Crawford R. M. Leaf fatty-acid content in relation to hardening and chilling injury // *J. Exp. Bot.* 1974. Vol. 25, N 84. P. 121–131.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Марковская Евгения Федоровна

главный научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: evgenia@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762706

Шерудило Елена Георгиевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sherudilo@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762712

Рипатти Паули Ониевиц

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
тел. (8142) 571879

Сысоева Марина Ивановна

главный научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sysoeva@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762706

Markovskaya, Evguenia

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: evgenia@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 762706

Sherudilo, Elena

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: sherudilo@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762712

Ripatti, Pauli

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
tel. (8142) 571879

Sysoeva, Marina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: sysoeva@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762706

УДК 582.475:581.1:504.5

ВЛИЯНИЕ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА МИНЕРАЛЬНЫЙ И ВОДНЫЙ РЕЖИМ СОСНЫ И ЕЛИ

Т. А. Сазонова, В. Б. Придача

Институт леса Карельского научного центра РАН

Исследовали показатели минерального и водного обменов (содержание и соотношение *NPK* в хвое, водный дефицит, определяемый по величине водного потенциала охвоенных побегов) сосны обыкновенной и ели сибирской в условиях воздействия на них выбросов промышленных предприятий. Переменными этих процессов характеризовали функциональное состояние растений. Одновременно по визуальным признакам (форма кроны, продолжительность жизни и степень поврежденности хвои) оценивали их жизненное состояние. Выявили нелинейное уменьшение содержания *N*, возрастание содержания *K* и водного дефицита с ухудшением жизненного состояния деревьев. Установили более тесные связи между этими показателями и жизненным состоянием у ели по сравнению с сосной. Показали важность потенциального функционального состояния растительного организма при его реагировании на неблагоприятные воздействия.

Ключевые слова: *Picea obovata* Ledeb., *Pinus sylvestris* L., содержание и соотношение *NPK*, водный потенциал, жизненное состояние, промышленное загрязнение.

T. A. Sazonova, V. B. Pridacha. EFFECT OF INDUSTRIAL POLLUTION ON MINERAL AND WATER METABOLISM IN PINE AND SPRUCE

Parameters of mineral and water metabolism (*NPK* content and ratio in needles, water deficit determined from the value of the water potential of needled shoots) in Scots pine and Siberian spruce affected by air-borne industrial pollution were investigated. Variables of these processes were used to characterize the functional condition of the plants. Simultaneously, the vitality status was determined by visual traits (crown shape, needle life span and degree of damage). Non-linear decrease in *N* content, increase in *K* content and water deficit were found to accompany deterioration of the tree vitality status. Spruce was found to have closer correlations between these parameters and the vitality status than pine. Importance of the potential functional condition of a plant organism in its response to adverse impacts was demonstrated.

Key words: *Picea obovata* Ledeb.; *Pinus sylvestris* L.; water potential; *NPK* content and ratio; vitality category; industrial pollution.

Наблюдаемое в настоящее время усиление воздействия выбросов промышленных предприятий на лесные экосистемы приво-

дит к существенным изменениям в структуре древесных растений [Ярмишко, 1997; Жиров и др., 2007 и др.], отмечается снижение густоты

кроны за счет преждевременного опадения или недоразвития листьев (хвои), изреживания скелетной части кроны и т. д. [Алексеев, 1990; Ярмишко, 1997 и др.]. В ряде работ показано изменение морфометрических показателей хвои [Ярмишко, 1997; Сухарева, Лукина, 2004; Таланова-Шэр, 2004; Михайлова и др., 2006]. Уменьшение линейных параметров хвои (листа) связывают, в частности, с негативным воздействием тяжелых металлов на растяжение клеток [Stern et al., 1984; Oren et al., 1988] вследствие нарушения эластичности клеточных стенок и формирования микротрубочек [Buzynski, Jakobi, 1983; Иванов и др., 2003]. Некоторые исследователи сокращение продолжительности жизни хвои объясняют ухудшением состояния дерева. Так, если у здоровых деревьев хвоя была 6–9 лет жизни, то у усыхающих оставалась только хвоя 1–2 года жизни [Ярмишко, 1997; Лукина, Никонов, 1998]. Кроме того, изменение массы хвои связывают с изменением площади проводящей ксилемы дерева [Кайбиянен и др., 1995а]. Так, например, в условиях промышленного загрязнения для сосны было показано, что у усыхающего дерева было 12 живых мутовок, из них только 5 колец участвовало в транспорте воды полностью и 4 – частично, тогда как у здорового было 17 живых мутовок, и все 17 колец ксилемы проводили воду по окружности.

Изменения в морфометрических признаках деревьев свидетельствуют об усилении (наряду с естественной) дифференциации деревьев по жизненному состоянию в условиях воздействия на них промышленных поллютантов, и эти признаки были положены в основу шкалы категорий их жизненного состояния [Алексеев, 1990; Ярмишко, 1997 и др.].

В то же время для понимания реакции растительного организма на промышленное загрязнение необходим учет физиологических особенностей деревьев разного жизненного состояния. Наиболее тесно связанными с внешней средой и зависящими от внутренних параметров растения, а поэтому отражающими в целом его жизнедеятельность являются минеральный и водный обмены. Универсальным показателем водного статуса растений признан водный потенциал – косвенная характеристика водного дефицита. В минеральном питании растений традиционно выделяют три основных элемента, которые связаны с такими важными для жизнедеятельности растений процессами, как продуцирование органического вещества (N), энергетика растений (P) и регуляция обменных процессов (K). Предполагается, что по соотношению этих трех элементов можно судить о сбалансированности основных ме-

таболических процессов, т. е. соотношение $N : P : K$ является не только показателем уровня минерального питания, но и характеризует функциональное состояние растений [Вахмистров, Воронцов, 1997 и др.].

Цель работы – исследовать показатели минерального и водного обменов (содержание и соотношение NPK в хвое, водный дефицит, определяемый по величине водного потенциала охвоенных побегов) сосны и ели, характеризующие функциональное состояние деревьев в условиях воздействия на них промышленных поллютантов.

Объекты и методы исследования

Работу проводили в районе действия Мончегорского комбината «Североникель» (Мурманская область, Кольский полуостров). Основными компонентами его выбросов являются SO_2 и тяжелые металлы [Крючков, Макарова, 1989; Ярмишко, 1997; Лукина, Никонов, 1998]. Пробные площади располагались на расстоянии 30 км от источника загрязнения в зоне начальной деградации экосистем. Годовое выпадение сульфатной серы в этой зоне составляет 1000–2000 кг км⁻², сумма металлов 50–500 кг км⁻², концентрация SO_2 в воздухе – 0,04 мг м⁻³ [Васильева и др., 2000].

Объектами исследования были два вида доминанта восточноевропейской тайги – 60–80-летние растения сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и 100–120-летние ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.), произрастающие соответственно в сосняке кустарничково-лишайниковом и ельнике кустарничково-зеленомошном. По визуальным признакам были выделены деревья четырех категорий жизненного состояния [Ярмишко, 1997].

I категория состояния – здоровые деревья. Кроны без выраженных следов повреждений имели густую зеленую хвою с продолжительностью жизни 6–9 лет, что характерно для региона. Сухие ветви II-го порядка были сосредоточены только в нижней части кроны.

II категория – ослабленные деревья. Крона изрежена приблизительно на 40–45 % в результате недоразвития, повреждения и преждевременного опадения хвои, а также сокращения прироста побегов. Средняя продолжительность жизни хвои снижена на 1,5–2 года по сравнению со здоровыми деревьями. У части хвои отмечалось наличие хлорозов и некрозов. Усыхание части ветвей II-го порядка наблюдалось не только в нижней, но и в средней части крон.

III категория – сильно ослабленные деревья. Кроны изрежены на ~75–80 % за счет

повреждения, усыхания и опадения половины побегов разных порядков ветвления. Продолжительность жизни хвои не превышает в среднем двух лет.

IV категория – усыхающие деревья. Кроны разрушены, их изреженность составляет более 90 %. Продолжительность жизни хвои не превышает 2–3 лет, треть деревьев имеют хвою только текущего года, цвет хвои изменен.

Каждую категорию характеризовали 5–10 деревьями. Образцы хвои или охвоенных побегов отбирали с верхней трети кроны дерева.

Исследования проводили в течение двух вегетационных периодов, растительные образцы для определения в них минеральных элементов отбирали в фазу окончания роста (август), водные потенциалы охвоенных побегов (Ψ) определяли в июле – августе в разное время суток и разным сочетанием гидрометеорологических переменных.

Химический анализ проводили в лаборатории физиологии и цитологии древесных растений и аналитической лаборатории Института леса КарНЦ РАН. Содержание азота (N), фосфора (P), калия (K) в хвое определяли в одной пробе после мокрого озоления согласно методическим указаниям [Методическое руководство..., 1990]. Повторность проб трехкратная. Водные потенциалы охвоенных побегов измеряли с помощью камеры давления [Scholander et al., 1964; Сазонова, 1979], температуру и относительную влажность воздуха – стандартными метеоприборами.

Результаты экспериментов представлены в виде средней арифметической величины и стандартной ошибки. Для обработки экспери-

ментальных данных использовали дисперсионный, корреляционный и регрессионный анализы (программа Statistica для Windows 5.0). Для разделения деревьев сосны и ели по степени угнетенности использовали кластерный анализ (программа Statgraphics 2.1 для Windows). Разность между двумя соотношениями $N : P : K$ выражали как корень квадратный из суммы квадратов разностей долей отдельных элементов: $\Delta_y = \sqrt{\Delta_N^2 + \Delta_P^2 + \Delta_K^2}$ [Вахмистров и др., 1986].

Результаты

Сопоставление содержания основных элементов минерального питания NPK в хвое деревьев сосны и ели разного жизненного состояния выявило значимые различия содержания макроэлементов в хвое деревьев разных категорий, а также их разнонаправленное нелинейное изменение (табл. 1). Так, например, у сосны с ухудшением жизненного состояния содержание N в хвое деревьев IV категории, по сравнению с I категорией, уменьшилось на 7 % ($r = -0,50$, $R^2 = 25$ %), содержание K в IV категории, напротив, увеличилось на 33 % ($r = 0,74$, $R^2 = 55$ %). У ели в хвое деревьев III категории, по сравнению с I категорией, содержание N уменьшилось ($r = -0,52$, $R^2 = 27$ %) и K – увеличилось ($r = 0,73$, $R^2 = 53$ %) соответственно на 19 и 24 %; при этом в IV категории состояния содержание K , напротив, уменьшилось на 10 %. Четкой зависимости содержания фосфора от жизненного состояния дерева нам обнаружить не удалось.

Соотношение $N : P : K$ в хвое сосны и ели с ухудшением категории состояния дерева также

Таблица 1. Содержание NPK (% от сухого веса) и их доли в соотношении $N : P : K$ (%) в двухлетней хвое деревьев сосны (*Pinus sylvestris* L.) и ели (*Picea obovata* Ledeb.) разного жизненного состояния

Показатель	Категория жизненного состояния				F_r^* ($F_{st} = 2,90$), $p < 0,05$
	Здоровые (I)	Ослабленные (II)	Сильно ослабленные (III)	Усыхающие (IV)	
Сосна					
N	$1,01 \pm 0,02$	$1,00 \pm 0,01$	$0,97 \pm 0,01$	$0,94 \pm 0,02$	11,59
P	$0,13 \pm 0,01$	$0,15 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,01$	6,12
K	$0,27 \pm 0,01$	$0,28 \pm 0,01$	$0,39 \pm 0,01$	$0,36 \pm 0,01$	38,32
Доля N	$71,3 \pm 0,3$	$70,7 \pm 0,9$	$63,6 \pm 0,2$	$65,7 \pm 0,4$	48,18
Доля P	$9,7 \pm 0,2$	$10,0 \pm 0,7$	$11,6 \pm 0,2$	$10,0 \pm 0,3$	3,97
Доля K	$19,0 \pm 0,3$	$19,3 \pm 0,3$	$24,9 \pm 0,4$	$24,3 \pm 0,4$	77,69
Ель					
N	$0,88 \pm 0,04$	$0,75 \pm 0,01$	$0,71 \pm 0,02$	$0,75 \pm 0,02$	12,37
P	$0,16 \pm 0,01$	$0,16 \pm 0,01$	$0,15 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,01$	7,77
K	$0,46 \pm 0,01$	$0,53 \pm 0,01$	$0,57 \pm 0,01$	$0,51 \pm 0,01$	35,12
Доля N	$58,3 \pm 0,4$	$52,3 \pm 0,2$	$50,0 \pm 0,4$	$50,0 \pm 1,0$	44,59
Доля P	$11,0 \pm 0,3$	$11,0 \pm 0,0$	$11,3 \pm 0,3$	$13,0 \pm 0,5$	8,25
Доля K	$30,7 \pm 0,2$	$36,7 \pm 0,2$	$38,7 \pm 0,6$	$37,0 \pm 0,5$	65,33

Примечание. Здесь и в табл. 2: F_r^* – критерий Фишера эмпирический, F_{st} – критерий Фишера табличный, p – уровень значимости.

значимо изменилось – уменьшилась доля *N* и увеличилась доля *K*. У сосны коэффициенты *r* и *R*² для доли *N* и *K* в хвое составили –0,74, 55 % и 0,83, 68 % соответственно, для ели, соответственно, –0,88, 77 % и 0,90, 81 %. Достоверной зависимости доли фосфора в хвое исследуемых видов от категории состояния не обнаружили. Разница между соотношениями *N* : *P* : *K* в хвое деревьев I и IV категории составила для сосны и ели 7 и 10 % соответственно.

Диапазоны варьирования водных потенциалов охвоенных побегов (Ψ) в период наблюдений были сходными у деревьев разного жизненного состояния. Однако колебания Ψ в пределах этого диапазона были определенным образом связаны с состоянием растений. Зависимость водного дефицита, характеризуемого величиной Ψ , от жизненного состояния дерева носила нелинейный характер. Как правило, водный дефицит у сосны и ели нарастал (Ψ уменьшался) от I к III и несколько уменьшался (Ψ увеличивался) или не изменялся до IV категории состояния. При этом связь Ψ с жизненным состоянием была более тесной у ели по сравнению с сосной, о чем свидетельствовали более высокие коэффициенты детерминации (*R*²) (табл. 2).

Следует отметить, что достоверные различия в величинах Ψ , связанные с жизненным состоянием дерева, наблюдались, прежде всего, в моменты их резких изменений. В суточной динамике это, в первую очередь, утренние и вечерние часы, когда восход или заход солнца вызывает быстрые изменения интенсивности

ФАР, температуры и относительной влажности воздуха. Сопоставление величин Ψ для выборок деревьев сосны разного жизненного состояния выявило их значимые различия 4 июля в 8 ч и для ели – 10 июля в 0, 6, 9, 24 ч. Измерения Ψ деревьев сосны в 13 ч и ели в 12, 16 и 18 ч различий в связи с категорией состояния не обнаружили. Иногда резкие изменения погодных условий наблюдались и в дневное время. Так, например, сухая жаркая погода в течение нескольких июльских дней сформировала значительный водный дефицит в деревьях сосны и ели, непродолжительный обильный дождь и затем вновь солнечная погода, наблюдаемые в дневное время 23 июля, привели к значительным колебаниям водного дефицита. Выполненные сразу после этого измерения Ψ выявили значимые различия в связи с жизненным состоянием деревьев. В холодные влажные дни, характеризующиеся небольшим водным дефицитом и его слабыми колебаниями, величина Ψ не зависела от категории состояния дерева. Примером такой ситуации являются данные, полученные 9 июля.

Таким образом, между содержанием и соотношением *NPK* в хвое, водным потенциалом охвоенных побегов и жизненным состоянием дерева существует определенная и, как правило, нелинейная связь. Для более глубокого анализа этих взаимосвязей и подтверждения возможности использования физиологических показателей для оценки жизненного состояния растения применили кластерный анализ.

Таблица 2. Водные потенциалы (МПа) охвоенных побегов деревьев сосны (*Pinus sylvestris* L.) и ели (*Picea obovata* Ledeb.) разного жизненного состояния

Вид	Дата	Время, час	Т, °С	Н, %	Категория жизненного состояния				Дисперсионный анализ			Регрессионный анализ	
					Здоровые (I)	Ослабленные (II)	Сильно ослабленные (III)	Усыхающие (IV)	F _f	F _{st}	p	R ² , %	p
Сосна	4.07	8	14	70	-0,87 ± 0,08	-1,02 ± 0,05	-1,01 ± 0,03	-1,08 ± 0,10	3,28	13,38	0,0000*	52,9	0,0000
		13	25	45	-1,01 ± 0,06	-1,04 ± 0,08	-1,01 ± 0,06	-1,00 ± 0,06	3,13	0,25	0,8605	-	-
Ель	10.07	0	7	73	-0,68 ± 0,03	-0,76 ± 0,07	-0,91 ± 0,10	-0,87 ± 0,10	3,27	11,24	0,0001*	50,3	0,0001
		6	7	85	-0,43 ± 0,06	-0,49 ± 0,04	-0,66 ± 0,13	-0,66 ± 0,16	3,22	6,63	0,0023*	42,2	0,0018
		9	15	80	-1,03 ± 0,05	-1,10 ± 0,06	-1,30 ± 0,10	-1,21 ± 0,12	3,25	15,04	0,0000*	54,7	0,0000
		12	19	50	-1,18 ± 0,13	-1,29 ± 0,07	-1,31 ± 0,15	-1,32 ± 0,08	3,28	2,46	0,0831	-	-
		16	25	40	-1,34 ± 0,18	-1,36 ± 0,16	-1,38 ± 0,17	-1,43 ± 0,10	3,24	0,42	0,7432	-	-
		18	20	50	-1,18 ± 0,13	-1,18 ± 0,10	-1,23 ± 0,07	-1,19 ± 0,07	3,22	0,42	0,7432	-	-
		24	10	75	-0,65 ± 0,07	-0,73 ± 0,09	-0,93 ± 0,18	-0,87 ± 0,09	3,36	13,77	0,0000*	49,2	0,0000
Сосна	23.07	16	27	45	-1,16 ± 0,10	-1,26 ± 0,06	-1,31 ± 0,09	-1,30 ± 0,09	3,47	7,95	0,0002*	33,7	0,0001
Ель					-1,33 ± 0,11	-1,29 ± 0,11	-1,59 ± 0,17	-1,55 ± 0,21	3,35	10,01	0,0001*	62,1	0,0000
Сосна	9.07	13	8	70	-0,74 ± 0,03	-0,71 ± 0,05	-0,70 ± 0,07	-0,70 ± 0,03	3,49	0,48	0,7047	-	-
Ель					-0,79 ± 0,09	-0,86 ± 0,14	-0,94 ± 0,08	-0,91 ± 0,08	3,24	3,08	0,0466	-	-

Примечание. * – различия достоверны. Т – температура воздуха, Н – относительная влажность воздуха. R² – коэффициент детерминации.

Данный подход с использованием в анализе значений содержания и соотношения *NPK* в хвое позволил выделить для сосны и ели три функциональных кластера (условно исходный, переходный, катастрофический), которые характеризуются определенным биохимическим статусом по исследуемым показателям (рис. 1). Например, как для сосны, так и для ели можно отметить общую закономерность – включение в первый исходный кластер деревьев с высокими значениями содержания и доли *N* и, напротив, небольшими значениями содержания и доли *K*.

Для третьего, катастрофического кластера характерно снижение содержания и доли *N* и рост содержания и доли *K* по сравнению с первым кластером. Второй, переходный кластер имеет промежуточные значения исследуемых показателей. При этом следует отметить, что процентное соотношение деревьев по категориям в каждом кластере различалось для сосны и ели (рис. 2). Так, у сосны первый кластер составили деревья I и II категорий, соответственно 60 и 40 %, тогда как у ели – только I категории (100 %). Во второй кластер у сосны и ели вошли деревья

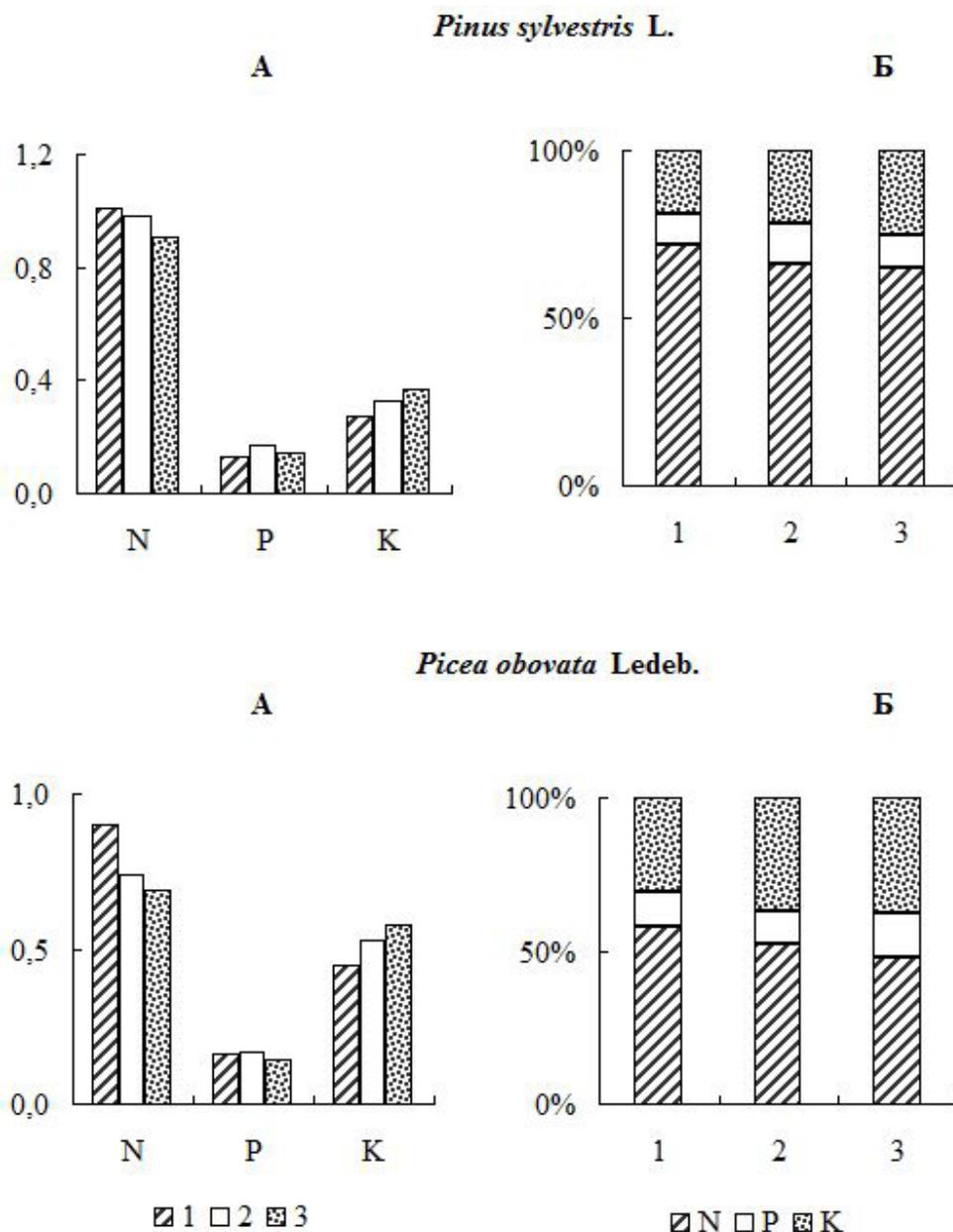
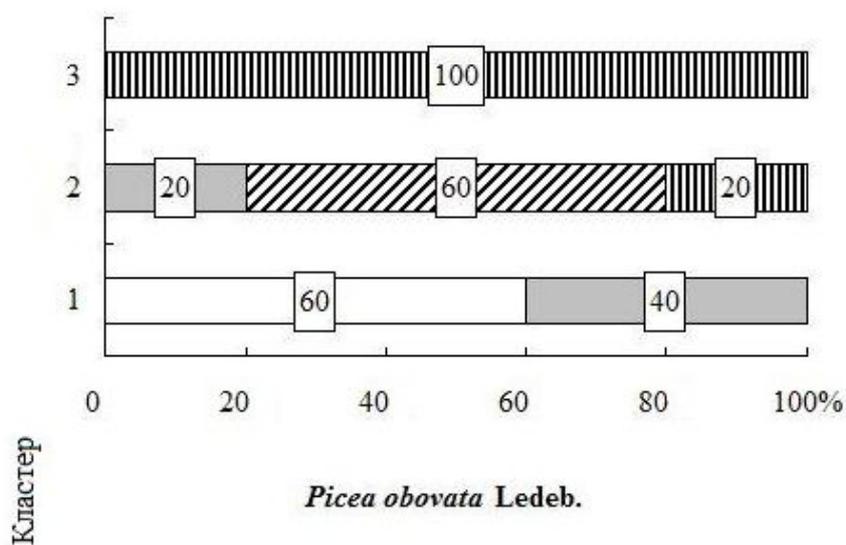


Рис. 1. Содержание *N*, *P*, *K* (% от сухого веса, А) и их доли в соотношении *N* : *P* : *K* (Б) в хвое деревьев *Pinus sylvestris* L. и *Picea obovata* Ledeb. по результатам кластерного анализа:

1, 2, 3 – кластеры

Pinus sylvestris L.



Picea obovata Ledeb.

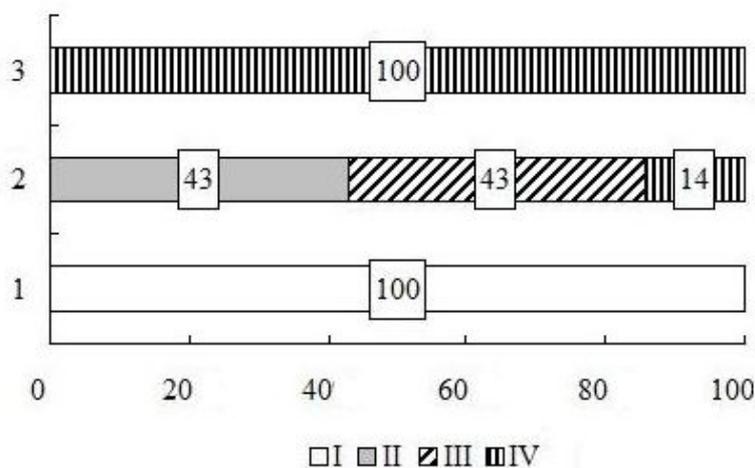


Рис. 2. Процентное соотношение деревьев *Pinus sylvestris* L. и *Picea obovata* Ledeb. по категориям состояния в кластере (данные по содержанию и соотношению NPK)

II, III и IV категорий, соответственно 20, 60, 20 % и 43, 43, 14 %. Третий кластер как у сосны, так и у ели составили деревья только IV категории состояния (100 %). При этом распределение всех деревьев сосны и ели по кластерам также различалось. Так, у сосны в первый, второй и третий кластеры вошли 42, 42 и 16 % всех деревьев, тогда как у ели – соответственно 25, 58 и 17 %. Полученный результат свидетельствует о разном метаболическом ответе деревьев сосны и ели на ослабление жизненного состояния в условиях загрязнения.

Распределение деревьев по трем кластерам было получено и в том случае, когда в основу кластеризации в качестве признаков были положены данные по Ψ охвоенных побегов деревьев

сосны и ели разного жизненного состояния. Как следует из рис. 3, в каждом кластере оказались представленными деревья разных категорий, и их распределение различалось у сосны и ели. Так, если у ели первый кластер составили только деревья I (54 %) и II (46 %) категорий состояния, то у сосны – деревья всех категорий (I – 39, II – 22, III – 22 и IV – 17 %). Во второй кластер у ели вошли в основном деревья III (50 %), IV (38 %) и немного II (12 %) категорий, а у сосны в этот кластер, как и в первый, – деревья всех категорий (I – 12, II – 13, III – 37, IV – 38 %). И, наконец, третий кластер был представлен двумя категориями деревьев ели – III (43 %) и IV (57 %) и тремя сосны – I (16 %), II (67 %) и IV (17 %). Для деревьев ели было характерно более четкое

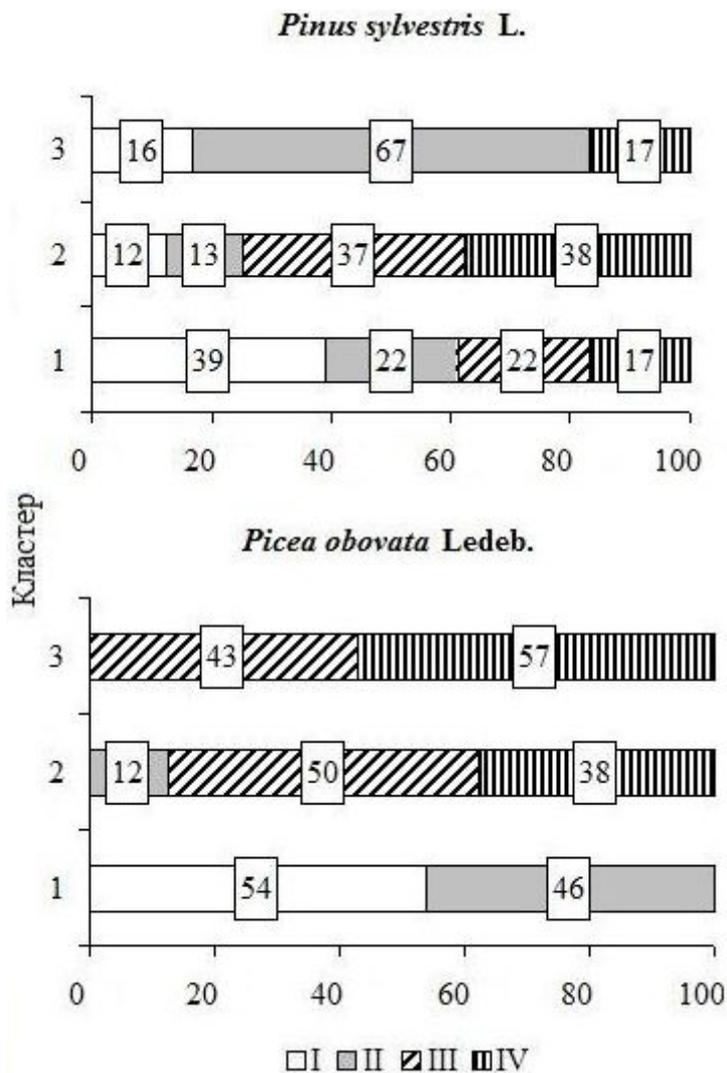


Рис. 3. Процентное соотношение деревьев *Pinus sylvestris* L. и *Picea obovata* Ledeb. по категориям состояния в кластере (данные по водным потенциалам)

соответствие между категорией жизненного состояния, определяемой визуально и по величине водного дефицита. Так, в первый кластер, которому соответствует более «благоприятный» водный режим, вошли деревья ели и визуально более «благополучные» (I–II категорий), второй, как переходный, вобрал все, кроме I категории, и, наконец, третий, характеризующий менее «благоприятный» водный режим, составили и визуально более поврежденные деревья (III–IV категорий). Напротив, для деревьев сосны характерно почти полное несоответствие между категориями состояния, определенными визуально и по физиологическому показателю. Так, первый («благоприятный») и второй («переходный») кластеры представлены деревьями сосны всех категорий, а третий (наименее «благоприятный») – напротив, визуально близкими к норме

деревьями I-й и II-й категорий и небольшой процент деревьев действительно поврежденных (IV).

Обсуждение

Анализ элементного состава хвои как для сосны, так и для ели показал уменьшение содержания N и увеличение содержания K с ухудшением категории состояния дерева. Этот результат согласуется с данными других исследователей [Теребова и др., 2003], которые в условиях загрязнения выявили нелинейное уменьшение содержания всех фракций азотных соединений, а также органических фосфорных соединений (нуклеотидов и фосфорилированных сахаров) в хвое деревьев *Pinus sylvestris* L. и *Picea obovata* Ledeb. с ухудшением жизнеспособности дерева. Высокое содержание K в хвое

усыхающих деревьев, по сравнению со здоровыми, может иметь адаптивное значение, поскольку катионы калия способны нейтрализовать ангидриды кислот, что повышает устойчивость растения к токсическим газам [Илькун, 1978 и др.]. Полученный результат может свидетельствовать об изменении ионного баланса клеток и нарушении нормального цикла биохимических процессов [Marschner, 1996; Судачкова и др., 1997; Clemens, 2001 и др.], что, в свою очередь, на уровне целого дерева проявляется в ингибировании формирования биомассы, торможении роста и нарушении функционирования корневой системы у ослабленных деревьев по сравнению со здоровыми [Ярмишко, 1997; Лукина, Никонов, 1998 и др.]. Кроме того, отмечают разный химический состав клеточных стенок хвои деревьев разной жизненности [Галибина, Теребова, 2008], в частности, меньшее количество ионообменных групп в структуре клеточной стенки хвои ослабленных деревьев по сравнению со здоровыми, что в условиях загрязнения может приводить к уменьшению связывания тяжелых металлов компонентами клетки и вследствие этого к изменению обмена веществ и структурных параметров дерева.

Проведенное нами сравнение соотношения $N : P : K$ у деревьев сосны и ели разной жизненности также обнаружило уменьшение доли N и увеличение доли K при ухудшении категории состояния дерева. Однако следует отметить, что соотношение макроэлементов как у сосны, так и у ели варьирует в зависимости от жизненного состояния дерева в меньшей степени (7–10 %), чем их содержание (7–33 %). Это подтверждает гипотезу о соотношении $N : P : K$ в хвое сосны и ели как гомеостатическом показателе [Придача, 2002; Сазонова, 2006 и др.], свидетельствующем о поддержании определенных соотношений основных метаболических процессов, обеспечивающих жизнедеятельность растений и в условиях техногенного стресса. Отмеченные нами изменения соотношения $N : P : K$ в хвое деревьев сосны и ели разной жизненности могут свидетельствовать о перестройке донорно-акцепторных отношений в системе целого растения в условиях загрязнения. Это косвенно подтверждается данными других авторов [Житкова, Новицкая, 2001], которые показали, что проникновение серосодержащих ксенобиотиков в ткани хвои в больших количествах вызывает изменение естественного pH клеток, что, в свою очередь, индуцирует сокращение плазмодесменных трубок и торможение транспорта метаболитов по симпласту, вследствие чего происходит нарушение оттока ассимиля-

тов и снижение активности ассимиляционной и экспортной функций хвои. Также в условиях загрязнения для хвойных было показано прогрессирующее ингибирование процессов фотосинтеза и темнового дыхания с ухудшением состояния дерева [Кайбияйнен и др., 1995а, б].

Диапазоны варьирования Ψ в течение вегетационных периодов в зависимости от погодных условий не выходили за пределы колебаний, регистрируемых нами в фоновых условиях [Sazonova et al., 2002; Сазонова и др., 2005]. Это свидетельствует о сохранении в определенной мере устьичной регуляции и в условиях воздействия на растения промышленных поллютантов. Наряду с этим нами показано, что колебания Ψ в пределах этого диапазона связаны с жизненным состоянием дерева. С его ухудшением увеличивается водный дефицит в охвоенных побегах. Это объясняется, прежде всего, тем, что в условиях промышленного загрязнения древесные растения оказываются под прямым или косвенным воздействием поллютантов [Amundson et al., 1986; Manninen, Huttunen, 1991; Кайбияйнен и др., 1995б; Wulff, Karenlampi, 1996; Sutinen et al., 1998; Жиров и др., 2007]. Это приводит к нарушениям во всех звеньях его водопроводящей системы, что обуславливает уменьшение ее проводимости и, как следствие, возрастание водного дефицита. Воздействие поллютантов на растение нарушает также сбалансированность его системы водного транспорта [Кайбияйнен и др., 1995а], поэтому различия более ярко выражены в моменты быстрых изменений в водном режиме дерева, что и наблюдалось в нашем исследовании (табл. 2).

Проведенные нами регрессионный и кластерный анализы данных по содержанию и соотношению NPK в хвое, водному потенциалу охвоенных побегов деревьев сосны и ели показали, что степень связи этих показателей с жизненным состоянием растений, определенным по визуальным признакам, была различной при сравнении исследуемых видов. Больше влияние категории жизненного состояния на исследуемые показатели характерно для деревьев ели, по сравнению с сосной, о чем свидетельствуют более высокие коэффициенты детерминации (R^2) у ели. Это, вероятно, обусловлено большей чувствительностью ассимиляционного аппарата ели к загрязнению, что согласуется с данными ряда авторов [Кирпичникова и др., 1995; Wulff, Karenlampi, 1996; Таланова-Шэр, 2004], которые отмечают в условиях загрязнения для ели, по сравнению с сосной, более значимые изменения ультраструктуры хвои, большую чувствительность пигментного состава фотосинтетического аппарата и более высокую скорость аккумуляции поллютанта.

На основании кластеризации данных по содержанию и соотношению *NPK* можно также предположить, что большая часть деревьев сосны находится в исходном состоянии с ненарушенным метаболизмом (42 %) и переходном состоянии с метаболическими нарушениями и структурными перестройками (42 %), тогда как меньшая часть деревьев ели, по сравнению с сосной, находится в исходном состоянии с ненарушенным метаболизмом (25 %) и значительно большая часть (58 %) находится в переходном состоянии. Меньшая часть деревьев, как сосны (16 %), так и ели (17 %), находится в устойчивом состоянии с преобладанием катаболических процессов, ведущих к гибели организма. Этот результат, вероятно, обусловлен различиями экологических стратегий исследуемых видов. Известно, что и у ели, и у сосны преобладающим интегральным свойством вида является конкурентоспособность, однако для ели отмечают выраженные черты толерантности, а для сосны – реактивности [Восточноевропейские..., 2004], что проявляется в ответной реакции видов при различных воздействиях.

Если кластеризация данных по содержанию и соотношению *NPK* в хвое деревьев сосны и ели показала почти сходное соответствие между категориями состояния, определяемыми визуально и по физиологическим показателям, то кластеризация данных по водному потенциалу обнаружила, что характерной особенностью деревьев сосны является их слабое соответствие между категориями состояния, определяемыми визуально и по физиологическому показателю, тогда как у ели оно, напротив, более сильно выражено. Причины этих различий, вероятно, связаны со значительной большей взаимозависимостью между структурными компонентами дерева и его водным режимом, чем с элементарным составом.

Для ели отмечают наименьшую продолжительность периода от необратимого ослабления деревьев до их полного усыхания, у сосны, напротив, период усыхания может быть довольно продолжительным [Барахтенова, 1995]. Наши данные по кластеризации с использованием показателя водного режима согласуются с этими результатами.

Интересным представляется тот факт, что деревья сосны и ели разной жизненности могут быть включены в один кластер и, наоборот, деревья одной категории состояния – в разные кластеры. Вероятно, это обусловлено тем, что ответная реакция растений на стресс может быть связана как со структурными перестройками для поддержания определенного уровня интенсивности метаболических процессов (дере-

вья разной жизненности в одном кластере), так и с метаболическими перестройками, целью которых является сохранение структурной целостности растительного организма (деревья одной категории состояния в разных кластерах) [Теребова и др., 2003]. Кроме того, очевидно, что дифференциация организмов по жизненному состоянию в сходных экологических условиях обусловлена генотипической разнородностью популяции [Мамаев, 1972; Ильин, 1985; Тараканов и др., 2007].

Заключение

В условиях начальной стадии деградации экосистем дифференциация растений сосны и ели по жизненному состоянию сопровождается определенными изменениями их физиологических показателей. Во всех категориях состояния обнаруживались растения с разными значениями уровней напряженности переменных минерального и водного обменов, что позволяет предположить неравнозначность их функциональных состояний. Чем дальше это значение от критической точки, тем оно более функционально активно и более устойчиво к действию стрессовых факторов. Следовательно, потенциальное функциональное состояние растительного организма является важным при его реагировании на неблагоприятные воздействия.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты 09-04-00299-а и 09-04-90739-моб_ст).

Литература

- Алексеев В. А. Лесные экосистемы и атмосферное загрязнение. Л.: Наука, 1990. 200 с.
- Барахтенова Л. А. Воздушные поллютанты и обмен серы у сосны обыкновенной, пороговые концентрации, эффекты защиты // Сиб. экол. журн. 1995. № 6. С. 478–494.
- Васильева Н. П., Гитарский М. Л., Карабань Р. Т., Назаров И. М. Мониторинг повреждаемых загрязняющими веществами лесных экосистем России // Лесоведение. 2000. № 1. С. 23–31.
- Вахмистров Д. Б., Вильямс М. В., Шарма Г., Ягодин Б. А. Соотношение N : P : K в среде и избирательная способность растений (теоретический анализ) // Физиология и биохимия культ. растений. 1986. Т. 18. № 4. С. 326–333.
- Вахмистров Д. Б., Воронцов В. А. Избирательная способность растений не направлена на обеспечение их максимального роста // Физиология растений. 1997. Т. 44, № 3. С. 404–412.
- Восточноевропейские леса: история в голоцене и современность / Под ред. О. В. Смирновой. М.: Наука, 2004. Кн. 1. 479 с.

Галибина Н. А., Терехова Е. Н. Особенности свойств клеточных стенок хвои здоровых и ослабленных растений сосны обыкновенной // Физиология растений. 2008. Т. 55, № 3. С. 419–425.

Жиров В. К., Голубева Е. И., Говорова А. Ф., Хаитбаев А. Х. Структурно-функциональные изменения растительности в условиях техногенного загрязнения на Крайнем Севере. М.: Наука, 2007. 166 с.

Житкова Е. А., Новицкая Л. Л. Особенности формирования и функционирования проводящей системы сосны обыкновенной после кратковременного воздействия кислотного дождя // Биоэкологические аспекты мониторинга лесных экосистем Северо-Запада России. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2001. С. 114–130.

Иванов В. Б., Быстрова Е. И., Серегин И. В. Сравнение влияния тяжелых металлов на рост корня в связи с проблемой специфичности и избирательности их действия // Физиология растений. 2003. Т. 50, № 3. С. 445–454.

Ильин В. Б. Элементный химический состав растений. Новосибирск: Наука, 1985. 129 с.

Илькун Г. М. Загрязнители атмосферы и растения. Киев: Наукова думка, 1978. 247 с.

Кайбияйнен Л. К., Болондинский В. К., Сазонова Т. А., Софронова Г. И. Водный режим и фотосинтез сосны в условиях промышленного загрязнения среды // Физиология растений. 1995а. Т. 42, № 3. С. 451–456.

Кайбияйнен Л. К., Хари П., Софронова Г. И., Болондинский В. К. Влияние длительности воздействия токсичных поллютантов на состояние устьиц и фотосинтез хвои *Pinus sylvestris* L. // Физиология растений. 1995б. Т. 42, № 5. С. 751–757.

Кирпичникова Т. В., Шавнин С. А., Кривошеева А. А. Состояние фотосинтетического аппарата сосны и ели в зонах промышленного загрязнения при различных микроклиматических условиях // Физиология растений. 1995. Т. 42, № 1. С. 107.

Крючков В. В., Макарова Т. Д. Аэротехногенное воздействие на экосистемы Кольского Севера. Апатиты: КНЦ АН СССР, 1989. 96 с.

Лукина Н. В., Никонов В. В. Питательный режим лесов северной тайги: природные и техногенные аспекты. Апатиты: КНЦ РАН, 1998. 316 с.

Мамаев С. А. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений (на примере сем. *Pinaceae*). М.: Наука, 1972. 284 с.

Методическое руководство по ускоренному анализу золы растений и определению азота. Петрозаводск, 1990. 45 с.

Михайлова Т. А., Бережная Н. С., Игнатьева О. В. Элементный состав хвои и морфофизиологические параметры сосны обыкновенной в условиях техногенного загрязнения. Иркутск, 2006. 134 с.

Придача В. Б. Соотношение N : P : K как гомеостатический показатель функционального состояния хвойных растений в разных экологических условиях: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петрозаводск, 2002. 24 с.

Сазонова Т. А. Применение камеры давления в экологических исследованиях // Биофизические методы исследования в экофизиологии древесных растений. Л., 1979. С. 86–97.

Сазонова Т. А. Эколого-физиологическое исследование реакции хвойных растений Северо-Запада России на воздействие природных и антропогенных факторов: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Петрозаводск, 2006. 40 с.

Сазонова Т. А., Кайбияйнен Л. К., Колосова С. В. Диагностика водного режима *Pinus sylvestris* (*Pinaceae*) // Ботан. журн. 2005. Т. 90, № 7. С. 1012–1022.

Сазонова Т. А., Колосова С. В., Исаева Л. Г. Водный режим *Pinus sylvestris* и *Picea obovata* (*Pinaceae*) в условиях промышленного загрязнения // Ботан. журн. 2007. Т. 92, № 5. С. 740–750.

Судачкова Н. Е., Шеин И. В., Романова Л. И. и др. Биохимические индикаторы стрессового состояния древесных растений. Новосибирск: Наука, 1997. 176 с.

Сухарева Т. А., Лукина Н. В. Химический состав и морфологические характеристики хвои ели сибирской на Кольском полуострове в процессе деградиционной сукцессии лесов // Лесоведение. 2004. № 2. С. 36–43.

Таланова-Шэр Т. Ю. Фотосинтетический аппарат растений при воздействии различных неблагоприятных факторов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петрозаводск, 2004. 21 с.

Тараканов В. В., Милютин Л. И., Куценогий К. П. и др. Элементный состав хвои в разных клонах сосны обыкновенной // Лесоведение. 2007. № 1. С. 28–35.

Терехова Е. Н., Галибина Н. А., Сазонова Т. А., Таланова Т. Ю. Индивидуальная изменчивость метаболических показателей ассимиляционного аппарата сосны обыкновенной в условиях промышленного загрязнения // Лесоведение. 2003. № 1. С. 73–77.

Ярмишко В. Т. Сосна обыкновенная и атмосферное загрязнение на европейском Севере. СПб.: СПбГУ, 1997. 210 с.

Amundson R., Walker B., Legge A. Sulfur gas emission in the boreal forest. VII. Pine tree physiology // Water, Air and Soil Pollution. 1986. Vol. 29. P. 129–147.

Byrzynski M., Jakobi M. Influence of lead on auxine-induced cell elongation // Acta Soc. Bot. Pol. 1983. Vol. 52. P. 231–239.

Clemens S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis // Planta. 2001. Vol. 212. P. 475–486.

Manninen S., Huttunen S. Needle and lichen sulphur analyses on two industrial gradients // Water, Air and Soil Pollution. 1991. Vol. 59. P. 153–163.

Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. London: Academic press, 1996. 363 p.

Oren R., Schulze E., Werk K., Meyer J. Performance of two *Picea abies* Karst. stand at different stages of decline // Oecologia. 1988. Vol. 77. P. 163–173.

Sazonova T. A., Kolosowa S. W., Robonen E. W. Rate of sap flow in Norway spruce // Monitoring of Energy-Mass Exchange between Atmosphere and Forests Ecosystems. Gottingen, 2002. P. 83–87.

Scholander P. F., Hammel H. T., Hemmingsen E. A., Bradstreet E. D. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1964. Vol. 52. P. 119–125.

Stern A., Boubel R., Turner D., Fox D. Fundamentals of air pollution. Orlando: Academic Press Inc., 1984. 513 p.

Sutinen S., Lumme I., Maenpaa M., Arkhipov V. Light microscopic structure of needles of Scots pine

(*Pinus sylvestris* L.) in relation to air pollution and needle element concentrations in S.E. Finland and the Karelian Isthmus, N.W. Russia // *Trees*. 1998. Vol. 12. P. 281–288.
Wulff A., Karenlampi L. Effects of long-term open-

air exposure to fluoride, nitrogen compounds and SO₂ on visible symptoms, pollutant accumulation and ultrastructure of Scots pine and Norway spruce seedlings // *Trees*. 1996. Vol. 10. P. 157–171.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Сазонова Татьяна Аркадьевна

ведущий научный сотрудник, д. б. н.
Институт леса Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sazonova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 768160

Sazonova, Tatyana

Forest Research Institute, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: sazonova@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 768160

Придача Владислава Борисовна

научный сотрудник, к. б. н.
Институт леса Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: pridacha@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 768160

Pridacha, Vladislava

Forest Research Institute, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: pridacha@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 768160

УДК 581.1

РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА НА КРАТКОВРЕМЕННЫЕ И ДЛИТЕЛЬНЫЕ СНИЖЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ В УСЛОВИЯХ РАЗНЫХ ФОТОПЕРИОДОВ

**Е. А. Спиридонова, М. И. Сысоева, Е. Г. Шерудило,
Т. Г. Шibaева**

Институт биологии Карельского научного центра РАН

На проростках огурца показано, что длительное действие низкой температуры тормозит рост и развитие растений, снижает накопление биомассы и изменяет ее распределение по органам растений по сравнению с контролем. Причем направленность действия постоянной низкой температуры была одинаковой при всех фотопериодах, включая круглосуточное освещение. Кратковременные снижения температуры (ДРОП) вызывают морфогенетический эффект, приводя к получению растений компактного габитуса при отсутствии влияния на накопление и распределение сухой массы, и значительно повышают холодоустойчивость растений. Фотопериод существенно влияет на проявление ответных реакций растений при ДРОП и не оказывает влияния при постоянном действии низкой температуры.

Ключевые слова: *Cucumis sativus* L., фотопериод, ДРОП – кратковременное снижение температуры, морфогенез, холодоустойчивость.

**E. A. Spiridonova, M. I. Sysoeva, E. G. Sherudilo, T. G. Shibaeva.
RESPONSES OF CUCUMBER PLANTS TO SHORT- AND LONG-TERM
TEMPERATURE DROP AT DIFFERENT PHOTOPERIODS**

It has been demonstrated in experiments with cucumber sprouts that long-term effect of low temperature inhibits the plants' growth and development, reduces accumulation of biomass and modifies its distribution among organs compared with the control. Directivity of the effect of constant low temperature was the same at different photoperiods, including 24-hour illumination. Short-term temperature reductions (DROP) have a morphogenetic effect, with formation of plants with compact growth habit but without affecting dry mass storage and distribution, and significantly enhance the plants' cold resistance. The photoperiod strongly influences manifestation of the response to DROP, but has no effect under constant low temperature impact.

Key words: *Cucumis sativus* L., photoperiod, DROP – short-term temperature reduction, morphogenesis, cold resistance.

Введение

Растения в процессе онтогенеза произрастают в переменных условиях среды. В течение суток они часто подвергаются воздействию кратковременных снижений температуры. Такая нестабильность суточного климата, проявляющаяся во флуктуациях температур в суточном цикле, особенно в ранневесенний период, согласно одному из сценариев изменения климата будет усиливаться [Филатов и др., 2003]. Кратковременные снижения температуры также широко используются в современном растениеводстве для выращивания компактных растений [Мое, Heins, 2000]. Как показано ранее, они увеличивают устойчивость растений к действию низких температур [Markovskaya et al., 2003; Sysoeva et al., 2005], оказывают влияние на их биологическую продуктивность [Марковская, Сысоева, 2004] и скорость развития [Чайлахян, Жданова, 1966; Сысоева и др., 2007]. Наряду с температурой существенное влияние на рост и развитие растений оказывает и фотопериод [Чайлахян, 1988; Adams, Langton, 2005].

В литературе недостаточно внимания уделяется совместному действию кратковременного снижения температуры и фотопериода на морфогенез, биологическую продуктивность и устойчивость растений. Механизмы ответных реакций растений на периодическое кратковременное низкотемпературное воздействие в условиях разных фотопериодов также практически не изучены. В связи с этим целью настоящей работы являлось изучение комплексного влияния кратковременных снижений температуры в условиях разных фотопериодов на растения огурца на ранних этапах онтогенеза.

Материал и методы

Работа выполнена на растениях огурца (*Cucumis sativus* L., сорт Зозуля). Семена проращивали в чашках Петри при 28 °С в течение двух суток, затем высаживали в вазоны с песком и переносили в камеры искусственного климата ВКШ-73 (полив питательным раствором Кнопа с добавлением микроэлементов, рН 6,2–6,4). Опыты проводили при фотопериодах разной продолжительности (8/16, 12/12, 16/8 ч и 24/0 ч) с выдерживанием одинакового суточного светового интеграла. Температура почвы соответствовала температуре воздуха; спектральный состав света – облучению лампами ДРЛ-400, интенсивность света составляла 150, 100, 75 и 50 Вт/м² при фотопериодах 8/16, 12/12, 16/8 и 24/0 ч, соответственно; концен-

трация CO₂ 0,03 % и относительная влажность воздуха – 60–70 %.

До начала низкотемпературных обработок растения выращивали в оптимальных температурных условиях [Марковская, 1994]: по 2 сут при 30 °С и 23 °С до полного раскрытия семядолей. По достижении соответствующей фазы растения контрольного варианта оставляли при 20 °С, опытные растения подвергали в течение 6 сут ежесуточным снижениям температуры (ДРОП) до 12 °С на 2 и 6 ч (варианты ДРОП_2 и ДРОП_6) в конце ночного периода или до завершения 24-ч цикла при круглосуточном освещении. Снижение температуры до 12 °С проводили с 22 °С в варианте ДРОП_2 и с 25 °С – в варианте ДРОП_6. При воздействии постоянной низкой температуры (ПНТ) растения экспонировали в течение 6 сут при 12 °С.

Холодоустойчивость растений определяли при помощи метода ЛТ₅₀ на семядольных листьях [Дроздов и др., 1976]. При этом о устойчивости судили по разнице между температурой, вызывающей гибель клеток в высечках опытных и контрольных растений.

По окончании опыта измеряли линейные размеры, высоту растения, длину черешка первого настоящего листа, определяли сухую массу растений. Повторность опыта в пределах варианта – 10-кратная при определении морфометрических показателей и 6-кратная при определении устойчивости, каждый опыт проводили 2 раза. Данные обработаны статистически с использованием пакета программ Statgraphics for Windows 7.0.

Результаты и обсуждение

Во всех вариантах опыта наиболее высокие растения были получены в условиях короткого 8-часового фотопериода (табл. 1). С увеличением продолжительности фотопериода высота растений уменьшалась, и при круглосуточном освещении растения были почти в 3 раза ниже, чем при коротком фотопериоде. Эксперименты были выполнены при одинаковом суточном интеграле света, что позволяет высказать предположение о влиянии длительности ночного периода на высоту растений, что согласуется с ранее полученными в литературе данными [Мошков, 1987]. Кратковременные снижения температуры по сравнению с контролем не оказывали влияния на высоту растений (табл. 1). Вероятно, это может быть связано с тем, что гипокотиль, определяющий высоту растений на изученном ювенильном этапе онтогенеза, сформировался полностью до начала ДРОП-обработок. Поэтому для изучения

влияния кратковременных низкотемпературных обработок на морфогенез растений был выбран другой показатель – длина черешка первого настоящего листа.

Таблица 1. Влияние кратковременных и длительных низкотемпературных воздействий на высоту растений огурца (см) на ранних этапах онтогенеза в условиях разных фотопериодов

Вариант опыта	Продолжительность фотопериода, ч			
	8/16	12/12	16/8	24/0
Контроль	8,7 ± 0,6	6,0 ± 0,5	5,4 ± 0,7	3,2 ± 0,5
ДРОП_2	7,9 ± 1,2	5,6 ± 0,5	5,4 ± 0,7	3,4 ± 0,4
ДРОП_6	9,3 ± 1,1	5,3 ± 1,0	5,3 ± 0,5	3,6 ± 0,4
ПНТ	8,0 ± 1,3	4,8 ± 0,4*	5,1 ± 0,7	2,8 ± 0,6*

В условиях короткого фотопериода (8/16 ч) морфогенетический эффект (уменьшение длины черешка первого настоящего листа) отмечался при 2-часовом снижении температуры (табл. 2). При увеличении длительности фотопериода до 16 ч для получения компактных растений требовалось более продолжительное (до 6 ч) низкотемпературное воздействие. Известно, что короткодневные (КДР) и длиннодневные растения (ДДР) имеют разную реакцию на кратковременное снижение температуры [Mortensen, Мое, 1992; Мое et al., 1995]. Наиболее сильное его влияние отмечено на короткодневных растениях [Мое et al., 1992]. В частности, уже 2-часовое снижение температуры с 18 до 12 °С уменьшало высоту таких короткодневных растений, как бегония и эуфорбия [Grindal, Мое, 1994]. Реакция длиннодневных растений на кратковременное снижение температуры зависит от продолжительности ее действия [Мое et al., 1995]. Например, для уменьшения высоты колокольчика и фуксии продолжительность воздействия должна быть не менее 6 ч [Hendriks et al., 1992; Мое et al., 1995]. В наших опытах на нейтральнодневном огурце при коротком фотопериоде (8/16) этот вид реагировал как КДР, а при длинном фотопериоде (16/8) – как ДДР. Это может быть связано с участием гиббереллинов в реакции растений на ежесуточные кратковременные снижения температуры [Myster et al., 1997; Grindal et al., 1998]. Градиент температур влияет на синтез гиббереллинов или на чувствительность тканей к гиббереллинам [Langton, Cockshull, 1997a, b], что может приводить к изменению размеров стебля [Erwin et al., 1989; Мое et al., 1991], в частности, за счет блокирования синтеза гиббереллинов на этапе превращения GA₁₉ в GA₂₀, контролируемое GA₁₉-оксидазой [Langton, Cockshull, 1997a, b]. Это превращение зависит от интенсивности света и продолжительности дня [Zeevaart et al., 1991]. Увеличение фотопе-

риода приводит к усилению синтеза гиббереллинов как у короткодневных [Oden, Heide, 1989], так и у длиннодневных [Zeevaart et al., 1991] растений. Кратковременное понижение температуры в сочетании с коротким фотопериодом, вероятно, лимитирует это превращение, что в свою очередь приводит к снижению роста стебля [Erwin, Heins, 1995], а для получения такого эффекта при длинном фотопериоде требуется более длительное низкотемпературное воздействие.

Влияние ежесуточных кратковременных снижений температуры на морфогенетические показатели растений при круглосуточном освещении в доступной нам литературе практически не исследовано. ДРОП-обработка растений огурца, особенно 6-часовая, в условиях непрерывного освещения вызвала наибольшее (до 30 %) по сравнению с другими фотопериодами ингибирование роста черешка (табл. 2). Таким образом, при 24-часовом фотопериоде кратковременные снижения температуры могут не только приводить к усилению бокового ветвления растений огурца [Сысоева др., 2007], но и вызывать значительный морфогенетический эффект. Подобное явление наблюдается и в природных условиях Севера, где сочетание полярного дня и суточных перепадов температур приводит к формированию компактных растений с усиленным ветвлением.

Таблица 2. Влияние кратковременных и длительных низкотемпературных воздействий на длину черешка (см) первого настоящего листа растений огурца на ранних этапах онтогенеза в условиях разных фотопериодов

Вариант опыта	Продолжительность фотопериода, ч			
	8/16	12/12	16/8	24/0
Контроль	1,8 ± 0,2	1,5 ± 0,2	1,7 ± 0,1	1,9 ± 0,3
ДРОП_2	1,6 ± 0,2*	1,4 ± 0,1	1,6 ± 0,2	1,6 ± 0,1*
ДРОП_6	1,5 ± 0,2*	1,3 ± 0,1*	1,3 ± 0,2*	1,3 ± 0,1*
ПНТ	–	–	–	–

Примечание. * – статистически достоверное отличие от контроля. В варианте ПНТ растения не имели развитого первого настоящего листа.

С удлинением фотопериода возрастало накопление сухой массы растения (рис. 1), достигая двукратного увеличения при непрерывном освещении. В условиях Севера на кормовых травах (*Dactylis glomerata*, *Phleum pratense*, *Poa pratensis*, *Festuca pratensis*, *Bromus inermis*, *Alopecurus pratensis*) показано, что при круглосуточном освещении, особенно при низкой температуре 9 °С, сухая масса растений также увеличилась в 2 раза по сравнению с коротким 8-часовым фотопериодом при одинаковом интеграле света [Solhaug, 1991]. Ежесуточные

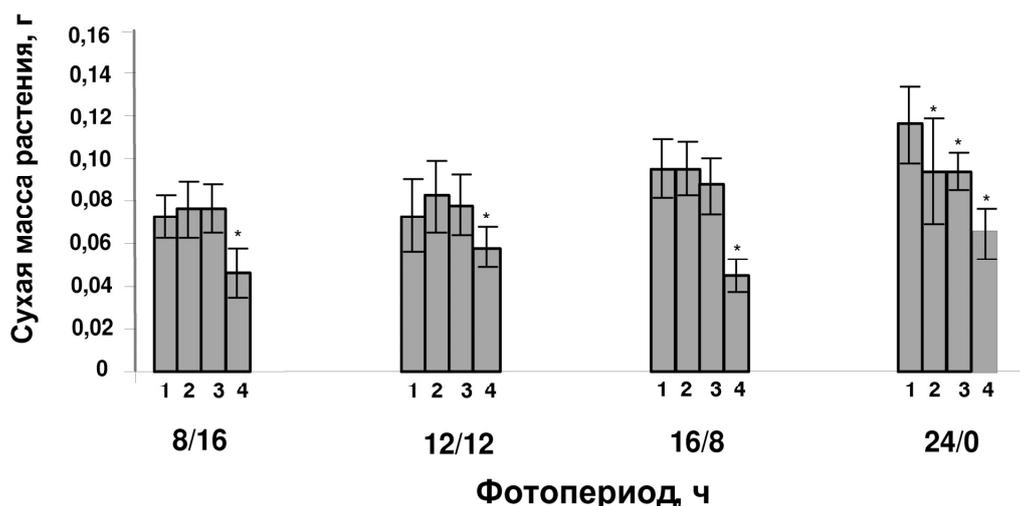


Рис. 1. Влияние кратковременных и длительных низкотемпературных воздействий на накопление сухой массы растения огурца на ранних этапах онтогенеза в условиях разных фотопериодов:

1 – контроль, 2 – ДРОП 2 ч, 3 – ДРОП 6 ч, 4 – ПНТ

кратковременные снижения температуры не оказали влияния на накопление сухой массы растений по сравнению с контролем при всех фотопериодах, за исключением круглосуточного освещения, в условиях которого они вызвали достоверное снижение биомассы (рис. 1).

Согласно исследованию распределения сухой массы по органам растений, постоянная низкая температура привела к усилению распределения биомассы в корни при всех фотопериодах (рис. 2), что хорошо согласуется с литературными данными [Corbel et al., 1999; Prud'homme et al., 2006]. Литературные данные по влиянию кратковременных снижений температуры на распределение биомассы по органам у растений немногочисленны. Так, у рождественской бегонии снижение температуры в ночной период на 4 ч с 20 до 14 °С увеличивало долю сухой массы листьев, а при утреннем снижении температуры этого отмечено не было [Bakken, Мое, 1995]. Ежесуточные снижения температуры на 2 ч с 21 до 12 °С в начале дня в условиях длинного 18 ч фотопериода не оказали влияния на соотношение надземных и подземных органов у растений огурца [Grimstad, 1993]. По результатам наших экспериментов также получено, что кратковременные снижения температуры в условиях разных фотопериодов не влияли на распределение (рис. 2). При круглосуточном освещении у контрольных растений заметно возросла относительная масса листьев. Увеличение длительности низкотемпературного воздействия (2, 6, 24 часа) привело к увеличению оттока ассимилятов из листьев в корни. Если при других фотопериодах эффект ДРОП при ПНТ на распреде-

ление сухой массы имел качественные отличия (присутствовал в варианте ПНТ и отсутствовал при ДРОП-обработках), то в условиях круглосуточного освещения отмечалась количественная реакция на усиление действия фактора.

Устойчивость растений при ДРОП-воздействии была значительно выше, чем при постоянном действии низкой закалывающей температуры (рис. 3), что согласуется с ранее полученными данными и свидетельствует о различных механизмах, ответственных за формирование холодоустойчивости при двух типах низкотемпературных воздействий [Марковская и др., 2000, 2008; Markovskaya et al., 2003]. При постоянном действии низкой закалывающей температуры (вариант ПНТ) длительность фотопериода не оказала влияния на холодоустойчивость проростков огурца, прирост которой по сравнению с контролем составил 0,5 °С при всех фотопериодах (рис. 3). Холодоустойчивость растений в варианте ДРОП определялась как продолжительностью фотопериода, так и длительностью кратковременного низкотемпературного воздействия. Так, при 2-часовом ДРОП прирост устойчивости возрастал от 2,5 до 3,2° с удлинением фотопериода от 8 до 16 ч, а при 6-часовом снижении температуры варьировал в диапазоне от 2,2 до 3 °С. При круглосуточном освещении 2- и 6-часовые снижения температуры индуцировали такой же прирост холодоустойчивости, как и в варианте с 2-часовым воздействием ДРОП при коротком фотопериоде.

Таким образом, по изученному комплексу показателей роста и развития реакция растений на кратковременные и длительные снижения температуры оказалась различной.

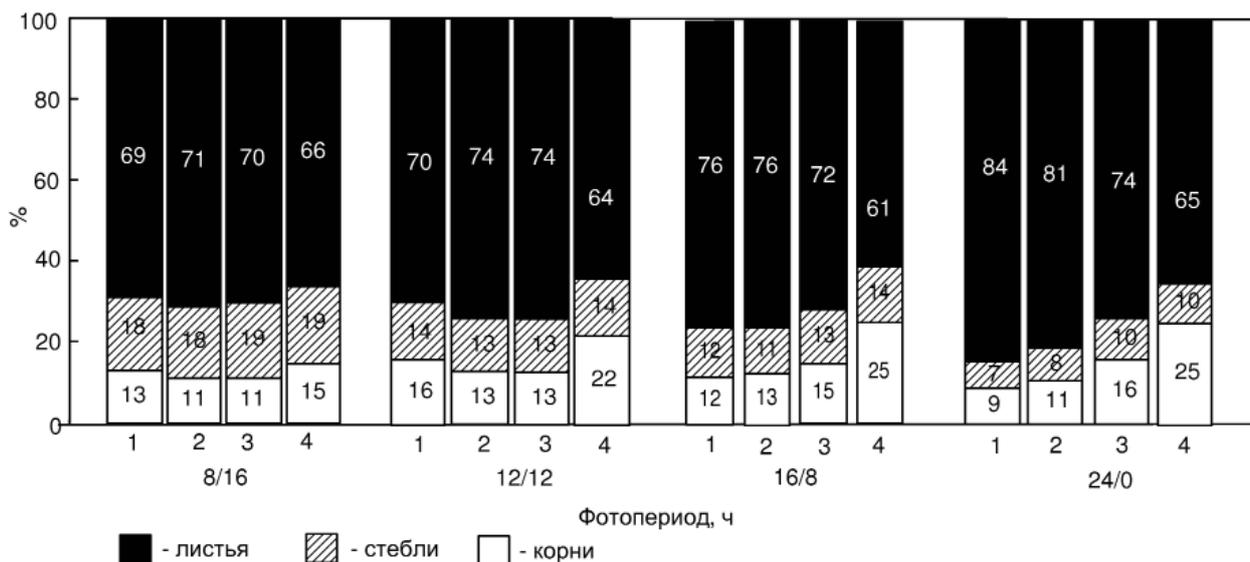


Рис. 2. Влияние кратковременных и длительных низкотемпературных воздействий на распределение сухой массы по органам растения огурца на ранних этапах онтогенеза в условиях разных фотопериодов: 1 – контроль, 2 – ДРОП 2 ч, 3 – ДРОП 6 ч, 4 – ПНТ

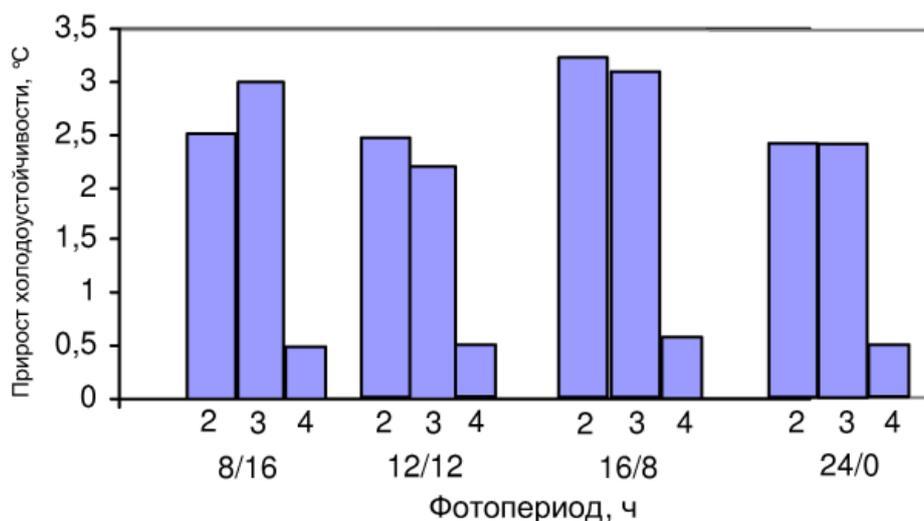


Рис. 3. Влияние кратковременных и длительных низкотемпературных воздействий на прирост холодоустойчивости растения огурца на ранних этапах онтогенеза в условиях разных фотопериодов: 2 – ДРОП 2 ч, 3 – ДРОП 6 ч, 4 – ПНТ

Длительное действие низкой температуры тормозило рост и развитие растений, снижало накопление биомассы и изменяло ее распределение по органам растений по сравнению с контролем. Причем характер действия постоянной низкой температуры был одинаков при всех фотопериодах, включая круглосуточное освещение. Кратковременные снижения температуры вызывали морфогенетический эффект, приводя к формированию растений компактного габитуса при отсутствии влияния на накопление и распределение сухой массы, и значительно повышали холодоустойчивость растений.

Фотопериод существенно влиял на проявление ответных реакций растений при ДРОП. Так, для получения морфогенетического эффекта с увеличением длительности фотопериода требовалось более продолжительное низкотемпературное воздействие. Холодоустойчивость при ДРОП возрастала с удлинением фотопериода.

В условиях круглосуточного освещения реакции растений на ДРОП существенно отличалась от других фотопериодов – морфогенетический эффект вызывался ДРОП воздействием любой продолжительности, снижалось накопление сухой массы растения, изменялось ее распреде-

ление по органам, отсутствовало дальнейшее увеличение холодоустойчивости.

ДРОП-воздействие является периодическим кратковременным воздействием низкой температуры, что может иметь важное регуляторное воздействие. Из литературы известно, что в сигнальные системы на низкую температуру включены фитохромы [Sysoeva et al., 2007; Grindal, Moe, 2009], связанные с биологическими часами, контролирующими цикличность процессов в организме. В условиях круглосуточного освещения, по-видимому, ингибируются ответные реакции, связанные именно с цикличностью. Это в той или иной степени просматривается в ответных реакциях растительного организма, выращенного в условиях круглосуточного освещения: растение реагирует на прямое усиливающееся действие низкой температуры (снижение сухой массы, распределение сухой массы в корни, снижение линейных размеров органа). Высказанная гипотеза требует экспериментальной проверки.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 07-04-00063).

Литература

- Дроздов С. Н., Курец В. К., Будыкина Н. П., Балагурова Н. И. Определение устойчивости растений к заморозкам // Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды / Под ред. Г. В. Удовенко. Л.: Колос, 1976. С. 222–228.
- Марковская Е. Ф. Адаптация *Cucumis sativus* L. к температурному фактору в онтогенезе // Физиология растений. 1994. Т. 41, № 4. С. 589–594.
- Марковская Е. Ф., Сысоева М. И. Роль суточного температурного градиента в онтогенезе растений. М.: Наука, 2004. 119 с.
- Марковская Е. Ф., Сысоева М. И., Харьковина Т. Г., Шерудило Е. Г. Влияние кратковременного снижения ночной температуры на рост и холодостойкость растений огурца // Физиология растений. 2000. Т. 47, № 4. С. 511–515.
- Марковская Е. Ф., Сысоева М. И., Шерудило Е. Г. Феномен ежесуточного кратковременного влияния низких закаливающих температур на жизнедеятельность растения // Онтогенез. 2008. Т. 39, № 5. С. 323–332.
- Мошков Б. С. Актиноритмизм растений. М.: ВО «Агропромиздат», 1987. 272 с.
- Сысоева М. И., Слободяник И. И., Шерудило Е. Г., Василевская Н. В. Влияние ежесуточных кратковременных снижений температуры на процессы органобразования у *Cucumis sativus* L. в условиях разных фотопериодов // Известия РАН, сер. Биол. 2007. № 6. С. 765–767.
- Филатов Н. Н., Назарова Л. Е., Сало Ю. А., Семенов А. В. Динамика и прогноз изменения климата Восточной Фенноскандии // Гидроэкологические проблемы Карелии и использование водных ресурсов. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2003. С. 33–39.
- Чайлахян М. Х., Жданова Л. П. Влияние температуры на фотопериодизм растений // ДАН СССР. 1948. Т. 62, № 4. С. 549–552.
- Bakken A. K., Moe R. Height and quality control in Christmas begonia by growth-retarding temperature regimes // Acta Agric. Scand. Sect. B, Soil and Plant Sci. 1995. Vol. 45. P. 283–292.
- Corbel G., Robin Ch., Frankow-Lindberg B. E. et al. Regrowth of white clover after chilling // Crop Sci. 1999. Vol. 39. P. 1756–1761.
- Erwin J. E., Heins R. D. Thermomorphogenic responses in stem and leaf development // HortScienc. 1995. Vol. 30. P. 940–949.
- Erwin J. E., Heins R. D., Karlsson M. G. Thermomorphogenesis in *Lilium longiflorum* // Am. J. Bot. 1989. Vol. 76. P. 47–52.
- Grimstad S. O. The effect of a daily low temperature pulse on growth and development of greenhouse cucumber and tomato plants during propagation // Scientia Hort. 1993. Vol. 53. P. 53–62.
- Grindal G., Ernstsen A., Junttila O. et al. Endogenous gibberellin A₁ levels control thermoperiodic stem elongation in *Pisum sativum* // Physiologia Plantarum. 1998. Vol. 102. P. 523–531.
- Grindal G., Moe R. Effects of temperature-drop and short dark interruption on stem elongation and flowering in *Begonia x hiemalis* Fotsch // Scientia Hort. 1994. Vol. 57. P. 123–132.
- Grindal Patil G., Moe R. Involvement of phytochrome B in DIF mediated growth in cucumber // Scientia Horticulturae. 2009. Vol. 122. P. 164–170.
- Hendriks L., Ludolph D., Menne A. Influence of different heating strategies on morphogenesis and flowering of ornamentals // Acta Hort. 1992. Vol. 305. P. 9–17.
- Langton F. A., Cockshull K. E. A re-appraisal of DIF extension growth responses // Acta Hort. 1997a. Vol. 435. P. 57–64.
- Langton F. A., Cockshull K. E. Is stem extension determined by DIF or absolute day and night temperatures // Scientia Hort. 1997b. Vol. 69. P. 229–237.
- Markovskaya E. F., Sherudilo E. G., Sysoeva M. I. Influence of long-term and short-term temperature drops on acclimation and de-acclimation in cucumber cold resistance // Acta Horticulturae. 2003. Vol. 618. P. 233–236.
- Moe R., Fjeld T., Mortensen L. M. Stem elongation and keeping quality in poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) as affected by temperature and supplementary lighting // Scientia Hort. 1992. Vol. 50. P. 127–136.
- Moe R., Heins R. D., Erwin J. Stem elongation and flowering of the long-day plant *Campanula isophylla* Moretti in response to day and night temperature alternations and light quality // Scientia Hort. 1991. Vol. 48. P. 141–151.
- Moe R., Heins R. D. Thermo- and photomorphogenesis in plants // Adv. Floriculture Res. Agric. Univ. of Norway. 2000. Rep. N 6. P. 52–64.
- Moe R., Willumsen K., Ihlebek I. H. et al. DIF and temperature drop responses in SDP and LDP, a comparison // Acta Hort. 1995. Vol. 378. P. 27–33.
- Mortensen L. M., Moe R. Effects of various day and night temperature treatments on the morphogenesis and

growth of some greenhouse and bedding plant species // Acta Hort. 1992. Vol. 327. P. 77–86.

Myster J., Ernstsén A., Junttila O., Moe R. Thermo- and photoperiodicity and involvement of gibberellins during day and night cycle on elongation growth of *Begonia x hiemalis* Fotsch // J. Plant Growth Regul. 1997b. Vol. 16. P. 189–196.

Oden P. C., Heide O. M. Quantification of different heating strategies and indoleacetic acid in *Begonia* leaves: relationship with environment, regeneration and flowering // Physiol. Plantarum. 1989. Vol. 76. P. 500–506.

Prud'homme M. P., Gastal F., Belanger G., Boucaud J. Temperature effects on partitioning of ¹⁴C assimilates in tall fescue (*Festuca arudinacea* Schreb.) // New Phytologist. 2006. Vol. 123. P. 255–261.

Solhaug K. A. Influence of photoperiod and temperature on dry matter production and chlorophyll content in temperate grasses // Norwegian J. Agric. Sci. 1991. Vol. 5. P. 365–383.

Sysoeva M. I., Sherudilo E. G., Markovskaya E. F. et al. Temperature drop as a tool for cold tolerance increment in plants // Plant Growth Regulation. 2005. Vol. 46. P. 189–191.

Sysoeva M. I., Grindal Patil G., Sherudilo E. G. et al. Effect of temperature drop and photoperiod on cold resistance in young cucumber plants – involvement of phytochrome B // Plant Stress. 2008. Vol. 2, N 1. P. 84–88.

Zeevaart J. A. D., Talon M., Wilson T. M. Stem growth and gibberellins metabolism in spinach in relation to photoperiod // Gibberellins / Eds. N. Takahashi, B. O. Phinney, J. N. MacMillan. Y.: Springer-Verlag, 1991. P. 350.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Спиридонова Евгения Анатольевна

аспирант
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: s-ev-a@yandex.ru
тел.: (8142) 762712

Сысоева Марина Ивановна

главный научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sysoeva@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762706

Шерудило Елена Георгиевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: sherudilo@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762712

Шибяева Татьяна Геннадиевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: kharkina@krc.karelia.ru
тел. (8142) 783622

Spiridonova, Evguenia

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: s-ev-a@yandex.ru
tel.: (8142) 762712

Sysoeva, Marina

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: sysoeva@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762706

Sherudilo, Elena

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: sherudilo@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762712

Shibaeva, Tatyana

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: kharkina@krc.karelia.ru
tel. (8142) 783622

УДК 58.036.5 : [581.17: 582.542.1]

ХАРАКТЕР И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ИЗМЕНЕНИЙ В ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОМ АППАРАТЕ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ХОЛОДОВОГО ЗАКАЛИВАНИЯ

**А. Ф. Титов, Ю. В. Венжик, В. В. Таланова, С. А. Фролова,
А. В. Таланов, Е. А. Назаркина**

Институт биологии Карельского научного центра РАН

На проростках озимой пшеницы изучали динамику ряда показателей активности фотосинтетического аппарата (ФСА) в процессе закаливания при температуре 4 °С. Показано, что первые часы воздействия холода являются этапом своеобразной функциональной «перенастройки» растительного организма к изменившимся температурным условиям. В это время отмечено некоторое снижение активности ФСА и полное прекращение линейного роста листа, а также адаптивное увеличение нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла. Затем (1–4 сут) устойчивость клеток листьев достигает максимального уровня, скорость фотосинтеза и электронного транспорта стабилизируется, содержание хлорофилла в светособирающем комплексе (ССК) увеличивается и возобновляется рост растений. Заключительный этап адаптации (4–7 сут) характеризуется не только постоянным уровнем устойчивости, но и новой функциональной организацией ФСА, что позволяет растениям успешно переносить пониженную температуру.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., холодное закаливание, холодоустойчивость, фотосинтез, хлорофиллы, флуоресценция хлорофилла.

**A. F. Titov, Yu. V. Venzhik, V. V. Talanova, S. A. Frolova, A. V. Talanov,
E. A. Nazarkina. THE NATURE AND SEQUENCE OF CHANGES IN
THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF WINTER WHEAT PLANTS
UNDER COLD HARDENING**

The dynamics of some parameters of the photosynthetic apparatus (PSA) activity of winter wheat seedlings during hardening at a temperature of 4 °C were studied. It was shown that first hours of cooling were the phase of peculiar functional «reset» of the plant organism to the new temperature conditions. In this period, we observed some decrease in PSA activity, cessation of leaf linear growth, and an adaptive increase in non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence. Then (1–4 days), cold resistance of leaf cells attained the highest level, the rate of photosynthesis and electron transport stabilized, chlorophyll content in the light-harvesting complex (LHC) increased, and plant growth resumed. The final phase of adaptation (4–7 days) featured not only constant tolerance level, but also new functional organization of PSA which allowed the plants to successfully survive low temperature.

Key words: *Triticum aestivum* L., cold hardening, cold resistance, photosynthesis, chlorophylls, chlorophyll fluorescence.

Введение

Работами многих авторов показано, что под влиянием низких закаливающих температур в растениях происходят многочисленные структурные и функциональные изменения, среди которых важное место занимают изменения в ФСА [Мирославов, 1994; Hurry et al., 1995; Yamasaki et al., 2002; Климов, 2003; Rapacz et al., 2004; Трунова, 2007; Венжик и др., 2008]. Существенно, что некоторые из них наблюдаются уже в первые часы воздействия холода и имеют очевидное адаптивное значение. Однако в литературе очень мало сведений, касающихся последовательности возникновения этих изменений, хотя информация подобного рода весьма важна для понимания природы адаптации растений. В связи с этим нами было проведено изучение характера и последовательности изменений ряда показателей активности ФСА у проростков озимой пшеницы в процессе их низкотемпературного закаливания.

Материал и методы

Опыты проводили с проростками озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, выращенными в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе Кнопа в камере искусственного климата при температуре воздуха 22 °С, его относительной влажности 60–70 %, освещенности 10 клк, фотопериоде 14 ч. Затем недельные проростки в течение 7 сут подвергали действию температуры 4 °С, сохраняя неизменными прочие условия. Растения контрольного варианта оставались при 22 °С. Все измерения проводились на первом листе.

Холодоустойчивость проростков оценивали по температуре (LT_{50}), вызывающей гибель 50 % палисадных клеток паренхимы листовых высечек после их 5-минутного промораживания в микрохолодильнике ТЖР-02/-20 (Интерм, Россия) [Балагурова и др., 1982]. Жизнеспособность клеток определяли с помощью светового микроскопа Микмед-2 (ЛОМО, Россия).

Площадь листовой пластинки определяли по В. В. Аникиеву и Ф. Ф. Кутузову [1961]. Интенсивность CO_2 -газообмена листьев проростков анализировали с помощью портативной фотосинтетической системы НСМ-1000 (Walz, Германия). При этом условия внутри листовой камеры для исследования были такими же, как в камере выращивания. Интенсивность нетто-фотосинтеза рассчитывали по известным формулам [Caemmerer, Farquhar, 1981]. Измерение флуоресценции хлорофилла прово-

дили с помощью флуориметра MINI-PAM (Walz, Германия). Листья предварительно адаптировали к темноте в течение 15 мин. Основные параметры флуоресценции хлорофилла *a* (относительная скорость электронного транспорта ETR , коэффициент нефотохимического тушения флуоресценции qN и максимальная эффективность фотосистемы II F_v/F_m) рассчитывали согласно работе [Maxwell, Johnson, 2000]. Содержание хлорофиллов определяли с помощью спектрофотометра СФ-2000 (Спектр, Россия) в спиртовой вытяжке [Гавриленко, Жигалова, 2003]. Расчет доли хлорофиллов в светособирающем комплексе (ССК) от их суммы производили с учетом того, что весь хлорофилл *b* находится в ССК, а отношение хлорофиллов a/b в ССК равно 1,2 [Lichtenthaler, 1987].

Повторность при оценке холодоустойчивости и показателей работы ФСА в пределах одного варианта – 3–6-кратная, а при анализе роста листа – 30–60-кратная. Каждый опыт повторяли не менее 2 раз. В статье обсуждаются величины, достоверные при $P \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что под влиянием температуры 4 °С наряду с ростом устойчивости клеток листа пшеницы происходит целый комплекс изменений в работе ФСА (табл.). В частности, повышение устойчивости, наблюдаемое уже в первые часы воздействия холода, сопровождалось увеличением коэффициента нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла. Его рост связан с рассеиванием избыточной энергии света в виде теплового излучения [Demmig-Adams, Adams, 2006], что часто отмечается у растений в условиях действия низкой температуры [Yamasaki et al., 2002; Hendrickson et al., 2004] и является своеобразным механизмом защиты фотосистемы II, наиболее чувствительной к повреждениям [Мокроносков и др., 2006]. Одновременно с этим наблюдали полное торможение роста листьев, а также снижение интенсивности фотосинтеза, скорости электронного транспорта и содержания хлорофиллов. Изменения в содержании хлорофиллов в первые часы закаливания, скорее всего, связаны с перестройкой мембранного аппарата хлоропластов, которые, как показано ранее, очень быстро реагируют на снижение температуры [Венжик и др., 2008]. При этом прекращение роста листа и снижение показателей функциональной активности ФСА, вероятно, вызваны прямым ингибирующим действием холода на эти процессы. Таким образом, уже в первые часы закаливания проис-

Характер и относительная величина изменений устойчивости и показателей активности ФСА в зависимости от продолжительности экспозиции проростков озимой пшеницы с. Московская 39 в условиях температуры 4 °С*

Показатель	Значение показателя по отношению к исходному** уровню, %							
	продолжительность экспозиции при 4 °С, ч							
	0	1	5	24	48	72	96	168
Холодоустойчивость	100	109*	125*	141*	152*	150*	161*	155*
Площадь листа	100	100	100	100	108*	114*	111*	134*
Интенсивность фотосинтеза	100	100	83*	82*	81*	80*	80*	83*
Скорость электронного транспорта, <i>ETR</i>	100	101	93*	96	85*	84*	83*	83*
Максимальная эффективность фотосистемы II, F_v/F_m	100	100	100	92*	93*	84*	83*	87*
Коэффициент нефотохимического тушения, <i>qN</i>	100	105	112*	111*	118*	125*	125*	134*
Содержание хлорофиллов <i>a + b</i>	100	89*	91*	98	103	106*	114*	112*
Содержание хлорофилла в ССК	100	85*	78*	90*	93*	101	117*	116*

Примечание. * Отличия от исходного уровня (22 °С) достоверны при $P \leq 0,05$. ** Исходный уровень холодоустойчивости – $-5,6 \pm 0,1$ °С, площади листа – 220 ± 3 мм², интенсивности фотосинтеза – $10,7 \pm 0,2$ мкмоль м⁻² с⁻¹, скорости электронного транспорта – $103,8 \pm 2,0$, максимальной эффективности фотосистемы II – $0,75 \pm 0,01$, коэффициента нефотохимического тушения – $0,56 \pm 0,01$, содержания хлорофиллов *a + b* – $1,22 \pm 0,02$ мг/г сырой массы, содержание хлорофилла в ССК – $0,69 \pm 0,05$ мг/г сырой массы.

ходит своеобразная «перенастройка» работы ФСА растений к изменившимся температурным условиям.

Через 24 ч закаливания на фоне дальнейшего возрастания устойчивости и нефотохимического тушения флуоресценции, при полном прекращении роста листа начинается стабилизация скорости фотосинтеза. Эти данные подтверждают точку зрения, согласно которой поддержание работы ФСА у озимых злаков осуществляется на фоне торможения ростовых процессов [Климов и др., 1992; Hurry et al., 1995]. Отдельно следует отметить, что с этого момента начинается восстановление содержания хлорофиллов за счет увеличения доли хлорофилла в ССК, что считается адаптивным механизмом компенсации снижения общего количества зеленых пигментов [Maslova, Popova, 1993; Шерстнева и др., 2007]. Возможно также, что на этом этапе происходит стабилизация пигмент-белковых комплексов, и с этим связано восстановление содержания пигментов. Стабилизация пигментных комплексов и увеличение содержания хлорофиллов, в свою очередь, поддерживают работу фотосистемы II в условиях низкой температуры [Oliveria et al., 2002]. Когда холодоустойчивость клеток листа достигает максимума (на 3–4 сут), возобновляется линейный рост листа (табл.). Очевидно, изменения в энергетическом обмене, произошедшие в растительных клетках под влиянием низкой температуры, весьма значительны и способствуют возобновлению на данном этапе роста. В целом этот этап (1–4 сут закаливания), видимо, следует рассматривать как период стабилизации работы ФСА в условиях низкой закаливающей температуры.

На заключительном этапе холодовой адаптации (4–7 сут) отмечен существенный прирост площади листовой пластинки (более чем

на 30 %) и коэффициента нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла, тогда как остальные показатели значительных изменений уже не претерпевали. Вероятно, в этот период ФСА функционирует в новом стабильном режиме, необходимом для выживания растений в изменившихся температурных условиях.

Отдельно подчеркнем, что наблюдаемое в процессе закаливания снижение основных показателей работы ФСА (скорость фотосинтеза, электронного транспорта и максимальная эффективность фотосистемы II) было не столь значительным (13–17 %), и все они на 7-е сут закаливания оставались на уровне, превышающем 80 % от исходных значений (табл.). Подобного рода факты приводятся и другими авторами, работавшими с ячменем [Krol et al., 1999] и озимой пшеницей [Gray et al., 1996]. Эти данные подтверждают, что для растений, выращиваемых в условиях пониженных температур, способность сохранять относительно высокую интенсивность фотосинтеза является очень важной [Hurry et al., 1995], поскольку позволяет накапливать резервные пластические вещества, необходимые для холодовой адаптации [Климов, 2003; Трунова, 2007].

Следует еще раз отметить, что полное прекращение роста листа наблюдалось у проростков пшеницы только в течение первых 24 ч закаливания. В дальнейшем зафиксирован медленный рост листа, и в результате к концу опыта (через 7 сут охлаждения) площадь листа закаленных проростков превосходила исходные значения примерно на треть (табл.). Подобное торможение роста является приспособительной реакцией, поскольку способствует преобладанию донорной функции (фотосинтез) над акцепторной (рост) [Климов и др., 1997]. Это, в свою очередь, приводит к сдвигу метаболизма в сторону усиления синтеза высокомо-

лекулярных соединений (углеводов, липидов) и благоприятствует дальнейшей адаптации к низкой температуре [Климов, 2003; Трунова, 2007]. Добавим, что пониженные температуры, ингибируя деление клеток, мало влияют на их рост растяжением [Родченко и др., 1988]. Вследствие этого формируются характерные для северных растений крупные клетки мезофилла, богатые хлоропластами, пролиферация которых усиливается, обуславливая дополнительную возможность поддержания достаточно высокой интенсивности фотосинтеза [Мирославов, 1994].

Резюмируя все изложенное, можно заключить, что под влиянием низкотемпературного закаливания происходит не только увеличение устойчивости проростков озимой пшеницы, но и целый комплекс адаптивных изменений в ФСА. Важно, что эти изменения возникают в определенной последовательности. В частности, в первые часы закаливания проростки реагируют на холод некоторым снижением активности ФСА и прекращением линейного роста листа. В это же время наблюдается адаптивное увеличение нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла. В целом первые часы закаливания можно рассматривать как период своеобразной функциональной «перенастройки» растительного организма к изменившимся условиям среды. Последующий этап закаливания (1–4 сут) характеризуется стабилизацией фотосинтеза и скорости электронного транспорта, увеличением содержания хлорофилла в ССК и возобновлением роста листа. В этот же период устойчивость клеток листьев достигает максимального уровня. Заключительный этап холодовой адаптации (4–7 сут) характеризуется не только постоянным уровнем холодоустойчивости, но и новой функциональной организацией ФСА растений, что позволяет им успешно переносить неблагоприятные условия внешней среды.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 06-04-49107а).

Литература

Аникиев В. В., Кутузов Ф. Ф. Новый способ определения площади листовой пластинки у злаков // Физиология растений. 1961. Т. 44, вып. 8. С. 375–377.

Балагурова Н. И., Дроздов С. Н., Хилков Н. И. Метод определения устойчивости растительных тканей к промораживанию. Петрозаводск: КФАН СССР, 1982. 6 с.

Венжик Ю. В., Фролова С. А., Котеева Н. К. и др. Структурно-функциональные особенности растений *Triticum aestivum* L. (*Poaceae*) на начальном этапе холодовой адаптации // Ботан. журн. 2008. Т. 93, № 9. С. 39–49.

Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. Большой практикум по фотосинтезу. М.: Академия, 2003. 241 с.

Климов С. В. Холодовое закаливание растений – результат поддержания повышенного отношения фотосинтез/дыхание при низких температурах // Известия РАН, сер. биол. 2003. № 1. С. 57–62.

Климов С. В., Астахова В. Н., Давыденко С. В., Трунова Т. И. Влияние холода на функцию и структуру фотосинтетического аппарата озимой пшеницы и ржи // Физиология растений. 1992. Т. 324, № 6. С. 1339–1344.

Климов С. В., Астахова В. Н., Трунова Т. И. Связь холодоустойчивости растений с фотосинтезом // Физиология растений. 1997. Т. 44, № 6. С. 879–886.

Мирославов Е. А. Структурная адаптация растений к холодному климату // Ботан. журн. 1994. Т. 79, № 2. С. 20–26.

Мокроносков А. Т., Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты. М.: Академия, 2006. 446 с.

Родченко О. П., Маричева Э. А., Акимова Г. П. Адаптация растущих клеток корня к пониженным температурам. Новосибирск, 1988. 147 с.

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

Трунова Т. И. Растение и низкотемпературный стресс. 64-е Тимирязевское чтение. М.: Наука, 2007. 54 с.

Шерстнева О. А., Маслова Т. Г., Мамушина Н. С. и др. Фотосинтетический аппарат и светозависимые поглощения ксантофиллов в листьях эфемероидов на разных этапах онтогенеза растений // Ботан. журн. 2007. Т. 92, № 1. С. 72–80.

Caemmerer S., Farquhar G. D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves // Planta. 1981. Vol. 153. P. 376–381.

Demmig-Adams B., Adams W. W. Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation // New Phytol. 2006. Vol. 172. P. 11–21.

Gray G. R., Savitch L. V., Ivanov A. G., Huner N. R. Photosystem II excitation pressure and development of resistance to photoinhibition // Plant Physiol. 1996. Vol. 110. P. 61–71.

Hendrickson L., Förffter B., Furbank R. T., Chow W. C. Processes contributing to photoprotection of grapevine leaves illuminated at low temperature // Physiol. Plant. 2004. Vol. 121. P. 272–281.

Hurry V. M., Strand A., Tobiasson M. et al. Cold hardening of spring and winter wheat and rape results in differential effects on growth, carbon metabolism and carbohydrate content // Plant Physiol. 1995. Vol. 109. P. 697–706.

Krol M., Ivanov A. G., Jansson S. et al. Greening under high light or cold temperature affects the level of xanthophyll-cycle pigments, early light-inducible proteins, and light-harvesting polypeptides in wild-type barley and the chlorina F2 mutant // Plant Physiol. 1999. Vol. 120. P. 193–203.

Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids – pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in enzymology. 1987. Vol. 148. P. 350–382.

Maslova T. G., Popova I. A. Adaptive properties of plant pigment systems // *Photosynthetica*. 1993. Vol. 29. P. 195–203.

Maxwell K., Johnson G. N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide // *J. Exp. Bot.* 2000. Vol. 51. P. 659–668.

Oliveria J. G., Alves P. L., Magalhães A. C. The effect of chilling on the photosynthetic activity in coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings. The protective action of chloroplastid pigments // *Brazil. J. Plant Physiol.* 2002. Vol. 14. P. 95–104.

Rapacz M., Gasior D., Zweirzykowski Z. et al. Changes in cold tolerance and the mechanisms of acclimation of photosystem II to cold hardening generated by anther culture of *Festuca pratensis* x *Lolium multifolium* cultivars // *New Phytol.* 2004. Vol. 162. P. 105–114.

Yamasaki T., Yamakawa T., Yamane Yo. et al. Temperature acclimation of photosynthesis and related changes in photosystem II electron transport in winter wheat // *Plant Physiol.* 2002. Vol. 128. P. 1087–1097.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Титов Александр Федорович

председатель КарНЦ РАН, чл.-корр. РАН, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: krcras@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 769710

Венжик Юлия Валерьевна

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: venzhik@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762712

Таланова Вера Викторовна

ведущий научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: talanova@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762712

Фролова Светлана Анатольевна

младший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: frolova@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762712

Назаркина Елена Александровна

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: meshkova@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762712

Titov, Alexandr

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: krcras@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 769710

Venzhik, Yulia

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: venzhik@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762712

Talanova, Vera

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: talanova@krc.karelia.ru
Tel. (8142) 762712

Frolova, Svetlana

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: frolova@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762712

Nazarkina, Elena

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: meshkova@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762712

ХРОНИКА

IV МЕЖДУНАРОДНЫЙ СИМПОЗИУМ «СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ И МЕТОДЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ, ВВЕДЕННЫХ В ЗООКУЛЬТУРУ» (ПЕТРОЗАВОДСК, 23–25 сентября 2009 г.)

23–25 сентября 2009 г. в г. Петрозаводске проходил IV Международный симпозиум «Современные проблемы и методы экологической физиологии и патологии млекопитающих, введенных в зоокультуру», организованный лабораторией экологической физиологии животных Института биологии КарНЦ РАН при финансовой поддержке Отделения биологических наук Российской академии наук и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 09-04-06075). В его работе приняли участие представители более 20 научных организаций, в том числе ученые Польши, Финляндии и Германии.

Нужно отметить, что изначально такие симпозиумы проводились как встречи ученых-звероводов, и вопросы, которые на них рассматривались, касались в основном практики клеточного пушного звероводства. Однако со временем менялся как круг участников, так и тематика этого научного мероприятия. На трех секциях нынешнего симпозиума («Физиолого-биохимические механизмы адаптации организма к действию факторов среды», «Проблемы кормления, воспроизводства и ветеринарии» и «Оптимизация физиологического состояния биологически активными веществами различного происхождения») было представлено более 50 устных и 20 стендовых докладов. Основная их часть касалась не только практики клеточного пушного звероводства, а в первую очередь использования животных, разводимых в условиях неволи, в качестве модель-

ных объектов при изучении различных аспектов биологии млекопитающих. О том, сколь уникальными объектами являются норки для изучения эффектов доместикиции, показал в своих докладах представитель школы новосибирских генетиков О. В. Трапезов. Одной из важнейших проблем, по мнению большинства участников, является сокращение количества звероферм и поголовья пушных зверей – в Карелии из 20 ранее существовавших крупных зверосовхозов осталось только одно хозяйство. Однако, как отметил в пленарном докладе проректор по научной работе Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина академик РАСХН Н. А. Балакирев, даже нынешний экономический кризис принес звероводам не только проблемы в виде снижения спроса на пушнину, но и пошел во благо некоторым отраслям звероводства – поголовье соболей клеточного разведения в России увеличилось.

Желающие смогли посетить стационар лаборатории, расположенный на территории звероводческой фермы ООО «Пряжинское», первый русский курорт «Марциальные воды», водопад Кивач и совершить экскурсию на теплоходе в музей-заповедник «Кижь».

В резолюции, принятой участниками симпозиума, отмечалась необходимость регулярного проведения таких встреч.

*Ученый секретарь симпозиума
д. б. н. В. А. Илюха*



Участники симпозиума у здания КарНЦ РАН



На звероводческой ферме ООО «Пряжинское»

ЮБИЛЕИ И ДАТЫ

ОЛЬГА НИКОЛАЕВНА ЛЕБЕДЕВА (к 60-летию со дня рождения)

Коллектив Института биологии Карельского научного центра РАН, коллеги генетики и физиологи растений от всей души поздравляют **Ольгу Николаевну Лебедеву** с прекрасной датой – юбилеем и 35-летием трудовой деятельности! Эти годы отданы благородному делу – служению науке. Как и многие из нас, Ольга Николаевна посвятила научной работе в ИБ КарНЦ РАН многие годы жизни, пройдя путь от лаборанта до заместителя директора по научной работе.

После окончания биологического факультета Петрозаводского государственного университета она работала учителем биологии в Ребольской средней школе (с. Реболы Муезерского р-на КАССР), затем вернулась в г. Петрозаводск в Институт биологии Карельского филиала АН СССР, где начинала свою профессиональную деятельность еще студенткой.

БИОГРАФИЧЕСКАЯ СПРАВКА

Лебедева Ольга Николаевна, 1949 г. рождения, в ИБ КарНЦ РАН работает с 1973 г., кандидат биологических наук (1994 г.), старший научный сотрудник по специальности «генетика» (1999 г.), доцент по специальности «генетика» (2003 г.). Научный стаж – 19 лет, стаж педагогической работы – 4 года. В занимаемой должности заместителя директора по научной работе ИБ КарНЦ РАН работает с 1 апреля 1996 г. Ею опубликовано более 90 научных работ и изобретений, из них 46 – после защиты кандидатской диссертации, получено 2 авторских свидетельства на изобретения.



О. Н. Лебедева является высококвалифицированным исследователем-генетиком. Основное направление ее научной деятельности – генетика и селекция растений, изучение вопросов естественного и индуцированного мутационного процесса у перекрестноопыляющихся видов растений и разработка научных основ мутационной селекции многолетних злаков. В результате исследований ею разработаны и предложены критерии, позволяющие оценить генетический и морфофизиологический статус панмиктических популяций, сформированных на мутантной основе, сформули-

рованы принципы мутационной селекции многолетних злаковых трав и создан сорт овсяницы луговой «Онежская», включенный в государственный реестр сортов сельскохозяйственных культур. В настоящее время область ее научных интересов связана с изучением систем генетического контроля светостойчивости у высших растений, что имеет значение как для понимания механизмов выживаемости растений, так и для разработки схем селекции перекрестно-опыляющихся растений. За время работы О. Н. Лебедева окончила курсы повышения квалификации в области молекулярной биологии в МГУ. С 2006 г. она руководит лабораторией генетики и осуществляет научное руководство всем комплексом исследований по самостоятельному направлению фундаментальных исследований, входящему в Программу фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2008–2012 гг. по разделу VI «Биологические науки» и направлению 45 «Общая генетика». О. Н. Лебедева являлась соруководителем конкурсного гранта программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие и динамика генофондов», подпрограмма «Динамика генофондов» (2006–2008 гг.), руководителем ряда договоров на выполнение НИР по направлению исследований.

ПУБЛИКАЦИИ

Наиболее полно результаты многолетних исследований изложены в следующих публикациях: монографиях «Функциональные особенности растительных популяций при индуцированном мутагенезе» (Олимпиакко Г. С., Лебедева О. Н., Павлова Н. А., Николаевская Т. С., Тихов П. В. Петрозаводск, 1995. 112 с.) и «Биологические особенности северных популяций многолетних злаков: генетический груз и выживаемость» (Лебедева О. Н., Николаевская Т. С., Титов А. Ф., Федоренко О. М., Стафеева Е. Б. Петрозаводск, в печати), в статьях «Особенности фотосинтетического аппарата хлорофиллдефектных фенотипов мутантных и нативной линий *Festuca pratensis* Huds.» (Марковская Е. Ф., Таланова Т. Ю., Олимпиакко Г. С., Лебедева О. Н., Тихов П. В. Физиология растений. 2002. Т. 49, № 2. С. 320–323), «Содержание пигментов и морфологический тип у овсяницы луговой» (Олимпиакко Г. С., Лебедева О. Н., Николаевская Т. С., Стафеева Е. Б., Титов А. Ф., Тихов П. В. Доклады РАСХН. 2005. № 5. С. 15–17), «О стратегии фотозащиты у высших растений» (Лебедева О. Н., Титов А. Ф., Стафеева Е. Б., Николаевская Т. С. Доклады РАСХН. 2007. № 4. С. 15–19), «Выживаемость популяций высших растений с различным уровнем панмиксии и генетического груза на северной границе их ареала: генетические и популяционные механизмы, обеспечивающие выживаемость и экологическую устойчивость популяций высших растений с

естественным грузом пигментных мутаций (на примере *Festuca pratensis* Huds.)» (Титов А. Ф., Лебедева О. Н., Николаевская Т. С. Сб. материалов по Программе фундаментальных исследований Президиума РАН № 11 «Биоразнообразие и динамика генофондов». Подпрограмма II «Динамика генофондов». ФИАН, Москва, 2007. С. 64–66), «Выживаемость популяций высших растений с различным уровнем панмиксии и генетического груза на северной границе их ареала: морфо-физиологические особенности природных (островных и континентальных) популяций арабидопсиса» (Титов А. Ф., Лебедева О. Н., Федоренко О. М., Топчиева Л. В., Грицких М. В. Сб. материалов по Программе фундаментальных исследований Президиума РАН № 11 «Биоразнообразие и динамика генофондов». Подпрограмма II «Динамика генофондов». ФИАН, Москва, 2007. С. 67–69).

С 1996 г. О. Н. Лебедева работает в должности заместителя директора по научной работе ИБ КарНЦ РАН, активно занимаясь наряду с научной разносторонней научно-организационной работой. Она является координатором научных работ по комплексным исследованиям Института, в том числе в рамках ФЦП «Государственная поддержка интеграции высшего образования и фундаментальной науки», ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» (2002–2006 гг.), ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России» (2007–2012 гг.). О. Н. Лебедева является членом Ученого совета ИБ КарНЦ РАН, Общего собрания РАН и ОБН РАН, координатором проектов, выполняемых в институте при поддержке РФФИ. Деятельность О. Н. Лебедевой в данной должности способствовала финансовой стабилизации Института, развитию его экспериментальной и материально-технической базы, привлечению молодых научных кадров, интеграции деятельности института и вузов города, внедрению информационных систем в научные исследования, организации работы по повышению квалификации работников и подготовке научных кадров. Она активно участвует в работе научных мероприятий, их организации и проведении. О. Н. Лебедева большое внимание уделяет инновационной деятельности, патентной работе и внедрению результатов НИР в практику. В 2003 г. совместно с Фондом высоких технологий и при финансовой поддержке фонда Евразии проведены курсы по повышению квалификации в области коммерциализации научных разработок.

С 1994 по 1998 г. О. Н. Лебедева занималась (по совместительству) педагогической работой на эколого-биологическом факультете Петрозаводского государственного универси-

тета, являясь доцентом кафедры ботаники и физиологии растений. В ПетрГУ она читала базовый курс лекций «Генетика с основами селекции» и спецкурс «Генетика популяций», вела практические занятия по «Генетике с основами селекции» и «Микрохимии растений», а также летнюю учебную практику по ботанике. Руководила выполнением курсовых и дипломных работ студентами эколого-биологического факультета ПетрГУ. В настоящее время ведет активную работу в рамках Эколого-биологического учебно-научного центра при ИБ КарНЦ РАН.

За активную научную, научно-организационную и педагогическую деятельность О. Н. Лебедева награждена медалью «Ветеран Труда» (1992 г.), Почетной грамотой РАН (1999 г., 2009 г.), Почетной грамотой Республики Каре-

лия (2003 г.), грамотой Федерального агентства по науке и инновациям (2008 г.).

О. Н. Лебедеву отличает эрудированность, умение контактировать с людьми, высокое чувство ответственности за выполняемую работу, что позволяет ей своевременно и успешно решать поставленные задачи. Она предельно добросовестна и инициативна, активно отстаивает интересы института, пользуется авторитетом и уважением в коллективе. Наконец, она просто очень дружелюбный, порядочный, душевный и добрый человек. От всей души желаем ей доброго здоровья, неиссякаемой энергии, жизнелюбия, творческих успехов, большого человеческого счастья.

Н. Н. Немова, Е. М. Матвеева

АЛЕКСАНДР ФЕДОРОВИЧ ТИТОВ (к 60-летию со дня рождения)

22 декабря 2009 г. исполняется 60 лет со дня рождения Заслуженного деятеля науки Республики Карелия и Российской Федерации члена-корреспондента РАН, доктора биологических наук, профессора Александра Федоровича Титова.

А. Ф. Титов родился в 1949 г. в г. Петрозаводске, где он в 1967 г. окончил 30-ю среднюю школу и поступил на биологический факультет Петрозаводского государственного университета (ПетрГУ). Изначально интерес к биологии появился у него в старших классах, а затем, в процессе учебы в университете, значительно укрепился и постепенно перерос в профессиональный. Будучи студентом 2-го курса он впервые переступил порог лаборатории генетики Института биологии Карельского научного центра (КарНЦ) РАН (тогда Карельского филиала АН СССР), где состоялось его знакомство с д. б. н. Г. С. Олимпиенко (тогда еще к. б. н.), во многом предопределившее его дальнейшую судьбу. Параллельно с учебой в ПетрГУ, он начал знакомиться с работой лаборатории генетики, ее сотрудниками, научными трудами по общей генетике и генетике растений. Затем последовали курсовая и дипломная работы. Учитывая его склонности и интересы, научные руководители Г. С. Олимпиенко и доцент, к. б. н. Л. Д. Музалева предложили ему тему по цитогенетике растений, связанную с изучением возможности модификации α -2,4-динитрофенолом эффектов γ -облучения *Crepis capillaries*. Работа требовала усидчивости и терпения, так как предполагала проведение многих часов за микроскопом, с помощью которого фиксировались и анализировались хромосомные aberrации, вызванные γ -облучением. Полученные результаты легли в основу его дипломной работы и неоднократно докладывались на студенческих научных конференциях (в ПетрГУ, во Львовском и Рижском государственных университетах) и отмечались грамотами. В 1972 г. А. Ф. Титов завершил с отличием учебу в ПетрГУ и был рекомендован



Ученым советом факультета для дальнейшей учебы в аспирантуре КарНЦ РАН.

Незадолго до этого, в 1971 г., на преддипломной практике, произошло его знакомство с директором Института биологии КарНЦ РАН д. б. н., профессором С. Н. Дроздовым, который предложил ему поступать в аспирантуру по специальности «физиология растений», но имея в виду, что тема будущей диссертационной работы будет лежать на стыке физиологии растений и генетики. После некоторых размышлений по совету Г. С. Олимпиенко он принял это предложение, а С. Н. Дроздов и Г. С. Олимпиенко договорились выступить в качестве соруководителей будущей работы.

Осенью 1972 г. А. Ф. Титов успешно сдал вступительные экзамены в очную аспирантуру по специальности «физиология растений» и стал аспирантом. Новая тема – «Морфофизио-

логический контроль в селекции овсяницы луговой (*Festuca pratensis* Huds.) на заморозкоустойчивость» – потребовала не только освоения новых методов исследований, знакомства с новым объектом, но самое главное – заставила резко расширить профессиональный кругозор, так как включала в себя элементы разных научных дисциплин – физиологии растений, генетики и селекции. Три года без выходных и отпусков пролетели незаметно, и к моменту завершения аспирантской подготовки, т. е. осенью 1975 г., кандидатская диссертация была подготовлена, и после небольшой доработки А. Ф. Титов представил ее к защите в диссертационный совет ПетрГУ, где она и была успешно защищена весной 1976 г.

Сразу после завершения учебы в аспирантуре А. Ф. Титов был принят на постоянную работу в лабораторию экологической физиологии растений Института биологии (в которой он как исследователь продолжает работать и по сей день) на должность младшего научного сотрудника (с 1975 г.), затем старшего научного сотрудника (с 1978 г.) и заведующего лабораторией (с 1986 г. по настоящее время). Таким образом, учеба в аспирантуре и последующая работа в названной лаборатории – это более 35 лет успешной работы в экологической физиологии растений и 40 лет научной деятельности в стенах КарНЦ РАН.

На протяжении всего периода работы основные научные интересы А. Ф. Титова связаны с изучением устойчивости растений и направлены на исследование влияния на растения неблагоприятных факторов внешней среды, прежде всего низких и высоких температур, и механизмов адаптации растений. Благодаря многолетним оригинальным исследованиям ему удалось внести существенный вклад в разработку физиологических основ устойчивости растений, получивший заслуженное признание среди специалистов в нашей стране и за рубежом. В 1974 г. А. Ф. Титовым (совместно с проф. С. Н. Дроздовым и проф. В. К. Курцом) была выдвинута, а в дальнейшем экспериментально подтверждена на различных объектах (видах и сортах) так называемая «зональная» гипотеза, или гипотеза «зонального» влияния температуры на устойчивость активно вегетирующих растений, установлены границы отдельных температурных зон для наиболее широко культивируемых сельскохозяйственных видов растений. В ходе многолетних исследований им детально изучены основные закономерности варьирования устойчивости растений в зависимости от характера температурного воздействия (интенсивность и продолжительность, общее или

локальное, отдельное или комбинированное). Им же предложена (1978, 1983) и экспериментально обоснована молекулярно-генетическая гипотеза, объясняющая главные принципы адаптивного ответа растений на действие неблагоприятных температур, что явилось теоретической и экспериментальной основой успешно защищенной в 1989 г. в диссертационном совете Института физиологии растений им. К. А. Тимирязева (Москва) докторской диссертации на тему «Устойчивость активно вегетирующих растений к низким и высоким температурам: закономерности варьирования и механизмы». В рамках этой работы и в последующих исследованиях подробно изучены температуроиндуцированные изменения различных молекулярно-генетических, физиолого-биохимических показателей и физиологических процессов у холодостойких и теплолюбивых растений, в частности, происходящие в генетической, белоксинтезирующей и гормональной системах, а также установлена важная роль указанных систем в механизмах термоадаптации. В целом эти результаты, наряду с данными других отечественных и зарубежных исследователей, явились той научной основой, которая обеспечила достижение значительного прогресса в современных представлениях о природе устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды. В настоящее время они используются в вузах страны при чтении лекций по физиологии растений и отдельных спецкурсов по данному предмету, а также в учебных пособиях для студентов биологических факультетов.

В последние годы лаборатория экологической физиологии растений Института биологии КарНЦ РАН, возглавляемая А. Ф. Титовым, активно включилась в изучение влияния на растения таких неблагоприятных абиотических факторов, как тяжелые металлы, засоление, повышенная кислотность. Эти исследования направлены не только на установление общих (неспецифических) и специфических реакций, определяющих устойчивость растений к стресс-факторам разной природы, но и связаны с разработкой системы фитоиндикационных показателей (морфо-физиологических, физиолого-биохимических и генетических), с помощью которых можно оценивать степень загрязненности (неблагополучия) окружающей среды, а также осуществлять экологический мониторинг. Результаты этого направления исследований А. Ф. Титова нашли отражение в целой серии научных статей в различных журналах, а также в недавно изданной монографии «Устойчивость растений к тяжелым металлам» (Петрозаводск, 2007).

В целом за годы исследований А.Ф. Титовым опубликовано (самостоятельно и в соавторстве) более 500 научных работ, в том числе 5 монографий. Значительная часть его научных работ опубликована в авторитетных отечественных и зарубежных журналах, таких как «Ботанический журнал», «Генетика», «Доклады Академии наук», «Доклады РАСХН», «Журнал общей биологии», «Известия РАН», «Онтогенез», «Растительные ресурсы», «Сельскохозяйственная биология», «Успехи современной биологии», «Успехи современной генетики», «Физиология и биохимия культурных растений», «Физиология растений», «Biochemie und Physiologie der Pflanzen», «Biologia plantarum», «Journal of Experimental Botany» и др. Он является редактором более 15 сборников научных статей, монографий и трудов научных конференций. Многие годы входил в состав редакционного совета, а затем редколлегии журнала «Физиология растений». В настоящее время является главным редактором «Трудов Карельского научного центра РАН» и членом редакционного совета журнала «Ученые записки Петрозаводского государственного университета».

Работы А. Ф. Титова постоянно поддерживаются грантами различных научных фондов и организаций (INTAS, РФФИ, Минобрнауки РФ и др.). Дважды (в 1994–1996 и 2000–2003 гг.) был удостоен Государственной научной стипендии для выдающихся ученых России. В настоящее время научные проекты, осуществляемые под его руководством, входят в программу фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие: инвентаризация, функции, сохранение» и в программу фундаментальных исследований Отделения биологических наук РАН «Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга».

Закономерным признанием научных заслуг А. Ф. Титова стало избрание его в 2003 г. членом-корреспондентом РАН по специальности «экологическая физиология растений» (по Отделению биологических наук РАН).

На протяжении многих лет большое внимание А. Ф. Титов уделяет преподавательской работе и подготовке кадров. С 1992 г. он возглавляет кафедру ботаники и методики преподавания биологии естественно-географического факультета Карельской государственной педагогической академии (КГПА), почти 20 лет читает там же базовый курс лекций по физиологии растений. Многие годы входит в состав Государственной аттестационной комиссии названного факультета. Под его руководством выполнены и успешно защищены 2 докторские и 11 кандидатских диссертаций.

В нашей республике А. Ф. Титов хорошо известен и как пропагандист достижений современной науки. Он регулярно выступает на страницах газет и журналов, на радио и телевидении. Является руководителем общественной редакции ежедневной республиканской газеты «Курьер Карелии». В последние годы особое место в его работе занимает подготовка к изданию энциклопедии «Карелия», главным редактором которой он является. Энциклопедия представляет собой систематизированный свод важнейших знаний, накопленных на начало XXI века, обо всех сторонах жизни Карелии, включая ее многовековую историю. Эта работа ведется по инициативе КарНЦ РАН, при широком участии ведущих ученых и специалистов Карелии, уже изданы два тома (первый – в 2007 г., второй – в 2009 г.), и в настоящее время ведется работа над третьим томом.

Наряду с научной и педагогической работой значительное время А. Ф. Титов отдает научно-организационной деятельности. На протяжении 18 лет он возглавляет КарНЦ РАН, один из центров академической науки на Северо-Западе России. КарНЦ РАН координирует и интегрирует различные научные исследования, проводимые на территории Республики Карелия (РК), в частности, через научные и научно-технические программы, носящие комплексный (мультидисциплинарный) характер. А. Ф. Титов принимает в этой работе деятельное участие, выступая научным руководителем многих таких программ.

Как руководитель КарНЦ РАН А. Ф. Титов уделяет большое внимание вопросам совершенствования научно-организационной структуры КарНЦ РАН. Под его руководством проведены существенные изменения в структуре, направленные на ее оптимизацию и развитие, осуществлена корректировка основных направлений научной деятельности КарНЦ РАН. За годы его руководства КарНЦ РАН на базе соответствующих отделов были созданы Институт экономики и Институт прикладных математических исследований, а также значительно улучшены условия работы и материально-техническая база многих научных и научно-вспомогательных подразделений. В 2007 г. сдан в эксплуатацию перестроенный лабораторный корпус КарНЦ РАН (пр. А. Невского, 50), куда переехали Институт экономики, ряд лабораторий Института биологии и редакционно-издательский отдел КарНЦ РАН. В 2009 г. значительно расширил свои площади Институт прикладных математических исследований КарНЦ РАН и переехал в фактически новое специально построенное

помещение научный архив КарНЦ РАН. И это лишь отдельные примеры работы председателя по развитию материально-технической базы КарНЦ.

А. Ф. Титов являлся членом многих научных и научно-технических советов, научных обществ. В частности, он является заместителем председателя Межведомственного Северо-Западного координационного совета при РАН по фундаментальным и прикладным исследованиям, членом Совета ректоров вузов РК, членом коллегий нескольких министерств РК, членом ряда Ученых советов (Института биологии КарНЦ РАН, ПетрГУ, КГПА), различных комиссий и рабочих групп – принимает активное участие в работе этих органов. Несколько лет он возглавлял работу диссертационного совета по защите кандидатских диссертаций по специальности «физиология и биохимия растений» при Институте биологии КарНЦ РАН, в настоящее время является членом объединенного диссертационного совета по защите докторских диссертаций при КГПА (по специальностям «биохимия» и «физиология»). А. Ф. Титов – сопредседатель Карельского отделения Общества физиологов растений России. С 1998 г. и по настоящее время – внештатный советник Главы РК по вопросам науки и стратегического развития. В 2006–2007 гг. он был избран от Северо-Западного федерального округа в состав Общественной палаты Российской Федерации первого созыва.

Многолетняя успешная работа А. Ф. Титова неоднократно отмечалась наградами различного уровня, в том числе орденом Почета (2003).

Поздравляем Александра Федоровича с юбилеем! Желаем крепкого здоровья, новых научных достижений, успехов в научно-организационной деятельности и достойных учеников.

В. В. Таланова, А. М. Крышень

СПИСОК ОСНОВНЫХ НАУЧНЫХ ТРУДОВ А. Ф. ТИТОВА

1975. Изопероксиды растений // Усп. соврем. биологии. Т. 80, № 1.

Полиморфизм морфологических признаков в популяции овсяницы луговой // С.-х. биология. Т. 10, № 5. (Совместно с Т. С. Николаевской, С. Н. Дроздовым, Г. С. Олимпиенко.)

1976. Депигментация проростков у овсяницы луговой под влиянием температуры // Генетика. Т. 12, № 1. (Совместно с Г. С. Олимпиенко, Ю. А. Митрофановым.)

Частота хлорофиллдефектных проростков в селекционных потомствах овсяницы луговой // Генетика. Т. 12, № 2. (Совместно с Г. С. Олимпиенко.)

1977. Самофертильность как показатель уровня мутирования у овсяницы луговой // Генетика.

Т. 13, № 7. (Совместно с Г. С. Олимпиенко, О. Н. Лебедевой.)

Количественная связь между числом электрофоретических вариантов пероксидазы и частотой естественных хлорофильных мутаций // Генетика. Т. 13, № 7. (Совместно с Г. С. Олимпиенко.)

1978. Полиморфизм ферментных систем и устойчивость растений к экстремальным (низким) температурам // Усп. соврем. биологии. Т. 85, № 1.

Генетика растительных изоферментов // Усп. соврем. биологии. Т. 85, № 3.

О возможной селективной ценности температурочувствительных хлорофильных мутаций у овсяницы луговой // Журнал общей биологии. Т. 39, № 4. (Совместно с Г. С. Олимпиенко, Н. А. Павловой.)

Молекулярно-генетический подход к проблеме терморезистентности растений // Эколого-физиологические механизмы устойчивости растений к действию экстремальных температур. Петрозаводск.

Изучение корреляций между хозяйственно-полезными и морфофизиологическими признаками у овсяницы луговой // С.-х. биология. Т. 13, № 4. (Совместно с С. Н. Дроздовым, Г. С. Олимпиенко.)

1979. Температурочувствительные хлорофильные мутации у высших растений // Усп. соврем. биологии. Т. 87, № 1.

Морфо-физиологическая гетерогенность селекционного материала у овсяницы луговой при первичном отборе // С.-х. биология. Т. 14, № 4. (Совместно с Г. С. Олимпиенко.)

1980. О зависимости между уровнем индуцированной холодоустойчивости и функциональной активностью 70S рибосом у овсяницы луговой (*Festuca pratensis* Huds.) // Журн. общей биол. Т. 41, № 3. (Совместно с З. Ф. Сычевой, С. Н. Дроздовым, Н. И. Балагуровой, В. А. Васюковой.)

О методах оценки холодостойкости растений огурца // Физиология растений. Т. 27, № 3. (Совместно с С. Н. Дроздовым, Н. И. Балагуровой, С. П. Критенко.)

1981. Количественная оценка эффектов хлорамфеникола на экспрессию некоторых морфофизиологических признаков у проростков огурца // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 13, № 3. (Совместно с В. В. Талановой.)

Зависимость между индуцированной терморезистентностью растений огурца и функциональной активностью внутриклеточных систем транскрипции и трансляции // Докл. ВАСХНИЛ. № 7. (Совместно с С. Н. Дроздовым, С. П. Критенко.)

Влияние специфических ингибиторов транскрипции и трансляции на способность проростков огурца к холодовому и тепловому закаливанию // Физиология растений. Т. 28, № 4. (Совместно с С. Н. Дроздовым, С. П. Критенко.)

Влияние хлорамфеникола на рост, развитие и некоторые физиологические показатели растений огурца в раннем онтогенезе // Онтогенез. Т. 12, № 5. (Совместно с В. В. Талановой.)

О терморезистентности проростков огурца и градации температурной шкалы // Физиология растений. Т. 28, № 6. (Совместно с С. Н. Дроздовым, Н. И. Балагуровой, С. П. Критенко.)

1982. К вопросу о функциональной автономности систем, контролирующей закалывание теплолюбивых растений к холоду и теплу // Докл. АН СССР. Т. 263, № 3. (Совместно с С. Н. Дроздовым, В. В. Талановой, С. П. Критенко.)

Изучение индуцированной теплоустойчивости у *Cucumis sativus* (Cucurbitaceae) // Ботан. журн. Т. 67, № 5. (Совместно с С. Н. Дроздовым, С. П. Критенко.)

Влияние специфических ингибиторов транскрипции и трансляции на холодовое и теплое закалывание растений томата // Физиология растений. Т. 29, № 4. (Совместно с В. В. Талановой, С. Н. Дроздовым.)

О термоадаптивных возможностях растений томата // С.-х. биология. Т. 17, № 4. (Совместно с С. Н. Дроздовым, В. В. Талановой.)

Генетические эффекты отбора у многолетних трав. Л.: Наука. (Совместно с Г. С. Олимпиенко, Т. С. Николаевской.)

Дыхательный газообмен листьев огурцов и томатов в зависимости от температуры // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 14, № 6. (Совместно с С. Н. Дроздовым, Т. В. Акимовой, В. В. Талановой.)

1983. Генетические исследования кормовых растений: проблемы и перспективы // Усп. соврем. генетики. Вып. 11. (Совместно с С. Я. Краевым, Г. С. Олимпиенко.)

Влияние хлорамфеникола на холодовое и тепловой закалывание растений на свету и в темноте // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 15, № 3. (Совместно с С. П. Критенко.)

О роли специфических и неспецифических реакций в процессах термоадаптации активно вегетирующих растений // Физиология растений. Т. 30, № 3. (Совместно с С. Н. Дроздовым, С. П. Критенко, В. В. Талановой.)

Энергетические реакции хлоропластов при холодовом закалывании пшеницы и ингибировании белкового синтеза // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 15, № 4. (Совместно с В. Л. Шмелевой, С. П. Критенко.)

Действие и последствие экстремальных температур на дыхательную активность листьев *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae) // Ботан. журн. Т. 68, № 8. (Совместно с В. В. Талановой, С. Н. Дроздовым, Т. В. Акимовой.)

Effect of temperature on the thermoresistance and respiration of tomato leaves (*Lycopersicon esculentum* Mill.) // Biochem. Physiol. Pflanzen. Vol. 178, N 8 (Совместно с В. В. Талановой, С. Н. Дроздовым, Т. В. Акимовой.)

Влияние цитокинина на терморезистентность проростков огурца и содержание пигментов в их листьях // Биол. науки. № 11. (Совместно с С. П. Критенко.)

1984. Терморезистентность активно вегетирующих растений. Л.: Наука. (Совместно с С. Н. Дроздовым, В. К. Курцом.)

Модификация процессов холодового и теплового закалывания растений томата с помощью экзогенных фитогормонов // Биол. науки. № 10. (Совместно с В. В. Талановой, С. Н. Дроздовым.)

The effect of temperature on cold and heat resistance of growing plants. I. Chilling-sensitive species // J. Exp. Bot. Vol. 35, N 160 (Совместно с С. Н. Дроздовым,

В. В. Талановой, С. П. Критенко, Е. Г. Шерудило, Т. В. Акимовой.)

The effect of temperature on cold and heat resistance of growing plants. II. Cold resistant species // J. Exp. Bot. Vol. 35, N 160. (Совместно с С. Н. Дроздовым, Н. И. Балагуровой, С. П. Критенко.)

Физиологическая адаптация огурцов и томатов к холоду и повышенным температурам // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 16, № 6. (Совместно с Т. В. Акимовой, В. В. Талановой, С. П. Критенко.)

Закономерности температурозависимого варьирования холодо- и теплоустойчивости проростков кукурузы и ячменя // С.-х. биология. № 12. (Совместно с С. Н. Дроздовым, Е. Г. Шерудило.)

1985. Создание высокопродуктивных и устойчивых к заморозку сортов овсяницы луговой методами экспериментальной селекции в условиях Севера // С.-х. биология. № 4. (Совместно с Г. С. Олимпиенко, О. Н. Лебедевой.)

Влияние абсцизовой кислоты на устойчивость активно вегетирующих растений к низким и высоким температурам // Физиология растений. Т. 32, № 3. (Совместно с С. Н. Дроздовым, В. В. Талановой, С. П. Критенко.)

Динамика РНК-полимеразной активности при адаптации растений к низким и высоким температурам и их реадaptации // Физиология растений. Т. 32, № 4. (Совместно с С. П. Критенко, Г. В. Новиковой, О. Н. Кулаевой.)

Роль транскрипционно-трансляционной системы в механизмах адаптации пшеницы к холоду и теплу // Биол. науки. № 8. (Совместно с С. П. Критенко.)

Влияние хлорамфеникола и циклогексимида на холодоустойчивость растений и активность эндогенных ауксинов и ингибиторов роста // Физиология растений. Т. 32, № 6. (Совместно с Р. И. Волковой, С. П. Критенко.)

1986. Влияние цитокининов на холодо- и теплоустойчивость активно вегетирующих растений // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 18, № 1. (Совместно с С. Н. Дроздовым, С. П. Критенко, В. В. Талановой, Е. Г. Шерудило.)

Скорость тепловой адаптации как критерий оценки теплоустойчивости сортов сои // С.-х. биология. № 4. (Совместно с С. Н. Дроздовым, В. В. Талановой, Т. В. Акимовой.)

Реакция теплолюбивых растений на действие повышенных температур: динамика тепло- и холодоустойчивости // Журн. общей биол. Т. 47, № 3. (Совместно с С. Н. Дроздовым, Т. В. Акимовой, В. В. Талановой.)

1987. О механизмах повышения теплоустойчивости растений при краткосрочном и длительном действии высоких температур // Физиология растений. Т. 34, № 1. (Совместно с С. Н. Дроздовым, В. В. Талановой, Т. В. Акимовой.)

Исследование реакции растений сои на действие температуры. Границы температурных зон // Физиология растений. Т. 34, № 2. (Совместно с С. Н. Дроздовым, Т. В. Акимовой, В. В. Талановой.)

Влияние актиномицина Д и циклогексимида на процесс адаптации сои к высокой температуре // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 19,

№ 2. (Совместно с С. Н. Дроздовым, В. В. Талановой, Т. В. Акимовой.)

1988. Изменения теплоустойчивости проростков томата при комбинировании краткосрочных и длительных закалок // Физиология растений. Т. 35, № 1. (Совместно с В. В. Талановой, Т. В. Акимовой.)

Влияние ингибиторов синтеза РНК и белка на формирование устойчивости при холодовой и тепловой закалке огурца в зависимости от срока их введения в растения // Биол. науки. № 10. (Совместно с С. П. Критенко, С. Н. Дроздовым.)

1989. Действие экзогенных гормонов и ингибиторов синтеза белка при повреждающих растения томатов низких и высоких температурах // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 21, № 1. (Совместно с В. В. Талановой.)

Влияние циклогексимида и хлорамфеникола на активность эндогенных ауксинов и ингибиторов роста при тепловой закалке растений // Физиология растений. Т. 36, № 2. (Совместно с Р. И. Волковой, С. П. Критенко.)

Особенности начального периода холодовой и тепловой адаптации растений (феноменологический аспект) // Физиология растений. Т. 36, № 4. (Совместно с Т. В. Акимовой, И. В. Крупновой.)

1990. Влияние абсцизовой кислоты и цитокинина на биосинтез белка при холодовой и тепловой адаптации растений // Физиология растений. Т. 37, № 1. (Совместно с С. П. Критенко.)

Динамика содержания абсцизовой и индолилуксусной кислот в листьях огурца при тепловой адаптации // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 22, № 2. (Совместно с В. В. Талановой, Г. Р. Кудряковой.)

Степень подавления процессов тепловой и холодовой адаптации растений ингибиторами синтеза РНК и белка при различных закалывающих температурах // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 22, № 4. (Совместно с Е. Г. Шерудило.)

1991. Изменения в системе ауксинов в начальный период теплового и холодового закалывания вегетирующих растений // Физиология растений. Т. 38, № 3. (Совместно с Р. И. Волковой, В. В. Талановой, С. Н. Дроздовым.)

Изменение уровня эндогенной абсцизовой кислоты в листьях растений под влиянием холодовой и тепловой закалки // Физиология растений. Т. 38, № 5. (Совместно с В. В. Талановой, Н. П. Боевой.)

Возможность передачи «сигнала» тепловой закалки в растения // Физиология растений. Т. 38, № 6. (Совместно с Т. В. Акимовой, Н. И. Балагуровой.)

1992. Формирование устойчивости в начальный период закалывания растений при действии ингибиторов белкового синтеза и цитокинина // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 24, № 4. (Совместно с Т. В. Акимовой, И. В. Крупновой.)

Влияние экзогенного ауксина на динамику холодоустойчивости вегетирующих растений в начальный период холодовой адаптации // Физиология растений. Т. 39, № 5. (Совместно с Р. И. Волковой.)

1993. Раздельное и комбинированное действие засоления и закалывающих температур на растения // Физиология растений. Т. 40, № 4. (Совместно с В. В. Талановой, С. В. Минаевой, С. Е. Солдатовым.)

1994. Сравнительное изучение реакции растений на действие высоких закалывающих и повреждающих температур // Физиология растений. Т. 41, № 3. (Совместно с Т. В. Акимовой, Л. В. Топчиевой.)

Endogenous abscisic acid content in cucumber leaves under the influence of unfavourable temperatures and salinity // J. Exp. Bot. Vol. 45, N 276. (Совместно с В. В. Талановой.)

Влияние локального прогрева на теплоустойчивость клеток листа и корня проростков пшеницы // Физиология растений. Т. 41, № 5. (Совместно с Н. И. Балагуровой, Т. В. Акимовой.)

1995. Влияние ионов свинца на рост проростков пшеницы, ячменя и огурца // Физиология растений. Т. 42, № 3. (Совместно с В. В. Талановой, Н. П. Боевой, С. В. Минаевой, С. Е. Солдатовым.)

Динамика содержания абсцизовой кислоты в листьях проростков огурца и ячменя при высоких закалывающих и повреждающих температурах // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 27, № 4. (Совместно с Т. В. Акимовой, В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой.)

Growth responses of barley and wheat seedlings to lead and cadmium // Biologia plantarum. 1996. Vol. 38 (3). (Совместно с В. В. Талановой, Н. П. Боевой.)

1996. Реакция растений на ионы свинца и неблагоприятную температуру // Докл. РАСХН. № 5. (Совместно с В. В. Талановой, Н. П. Боевой.)

1998. Последствие локального прогрева побегов или корней на теплоустойчивость клеток листа и корня у проростков озимой пшеницы // Физиология растений. Т. 45, № 5. (Совместно с Т. В. Акимовой, Н. И. Балагуровой.)

1999. Влияние локального прогрева на тепло-, холодо- и солеустойчивость клеток листа и корня растений // Физиология растений. Т. 46, № 1. (Совместно с Т. В. Акимовой, Н. И. Балагуровой.)

2000. Динамика холодоустойчивости клеток листа и корня проростков пшеницы и огурца при общем и локальном охлаждении // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 32, № 4. (Совместно с Т. В. Акимовой, Н. И. Балагуровой.)

Effect of increasing concentrations of lead and cadmium on cucumber seedlings // Biologia plantarum. Vol. 43 (3). (Совместно с В. В. Талановой, Н. П. Боевой.)

2001. Влияние возрастающих концентраций тяжелых металлов на рост проростков ячменя и пшеницы // Физиология растений. Т. 48, № 1. (Совместно с В. В. Талановой, Н. П. Боевой.)

Влияние локального охлаждения проростков огурца и пшеницы на различные виды устойчивости листа и корня // Физиология растений. 2001. Т. 48, № 1. (Совместно с Н. И. Балагуровой, Т. В. Акимовой.)

Влияние свинца и кадмия на проростки ячменя // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 33, № 1. (Совместно с В. В. Талановой, Н. П. Боевой.)

Повышение теплоустойчивости листьев при локальном прогреве проростков // Физиология растений. Т. 48, № 4. (Совместно с Т. В. Акимовой, Н. И. Балагуровой, Е. А. Мешковой.)

Влияние ионов свинца на рост и морфофизиологические показатели растений ячменя и овса // Физиология и биохимия культ. растений. Т. 33, № 5. (Совместно с Г. Ф. Лайдинен, Н. М. Казниной.)

2002. Влияние высоких концентраций кадмия на рост и развитие ячменя и овса на ранних этапах онтогенеза // *Агрохимия*. № 9. (Совместно с Г. Ф. Лайдинен, Н. М. Казниной.)

2003. Динамика холодо- и теплоустойчивости растений при действии различных стресс-факторов на их корневую систему // *Физиология растений*. Т. 50, № 1. (Совместно с В. В. Талановой, Т. В. Акимовой.)

Динамика содержания АБК в листьях и корнях проростков огурца и их теплоустойчивости под влиянием общего и локального прогрева // *Физиология растений*. Т. 50, № 1. (Совместно с В. В. Талановой, Т. В. Акимовой.)

2004. Влияние свинца на рост и развитие *Setaria viridis* (L.) Beauv. // *Растительные ресурсы*. Т. 40, № 3. (Совместно с Г. Ф. Лайдинен, В. В. Талановой, Н. М. Казниной.)

2005. Влияние свинца на фотосинтетический аппарат однолетних злаков // *Известия РАН, сер. биол.* № 2. (Совместно с Н. М. Казниной, Г. Ф. Лайдинен, А. В. Талановым.)

Содержание пигментов и морфологический тип растений овсяницы луговой // *Докл. РАСХН*. № 5. (Совместно с Г. С. Олимпиенко, О. Н. Лебедевой, Т. С. Николаевской, Е. Б. Стафеевой, П. В. Тиховым.)

2006. Динамика фотосинтеза и транспирации проростков огурца в начальный период хлоридного засоления и при действии фитогормонов // *Докл. РАСХН*. № 2. (Совместно с В. В. Талановой, А. В. Талановым.)

Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. М.: Наука. (Совместно с Т. В. Акимовой, В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой.)

Влияние абсцизовой кислоты на устойчивость проростков огурца к комбинированному действию высокой температуры и хлоридного засоления // *Известия РАН, сер. биол.* № 6. (Совместно с В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой.)

Влияние кадмия на апикальные меристемы стебля растений ячменя // *Онтогенез*. Т. 37, № 6. (Совместно с Н. М. Казниной, Г. Ф. Лайдинен.)

2007. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН. (Совместно с В. В. Талановой, Н. М. Казниной, Г. Ф. Лайдинен.)

Стратегия фотозащиты у высших растений // *Докл. РАСХН*. № 4. (Совместно с О. Н. Лебедевой, Е. Б. Стафеевой, Т. С. Николаевской.)

Влияние прогрева корней на устойчивость клеток листьев ячменя и ультраструктуру хлоропластов и митохондрий // *Докл. Академии наук*. Т. 415, № 6. (Совместно с Т. В. Акимовой, Ю. В. Венжик.)

2008. Изменение нетто-фотосинтеза растений люпина узколистного под влиянием температуры почвы // *Докл. РАСХН*. № 2. (Совместно с С. Н. Дроздовым, Э. Г. Поповым, Е. С. Холопцевой.)

Влияние кадмия на состав жирных кислот липидов в побегах карельской березы *in vitro* // *Физиология растений*. Т. 55, № 5. (Совместно с Т. Ю. Кузнецовой, Л. В. Ветчинниковой, М. К. Ильиной.)

Влияние кадмия на морфо-физиологические показатели березы *in vitro* // *Лесной журнал*. № 3. (Совместно с Т. Ю. Кузнецовой, Л. В. Ветчинниковой.)

Влияние стресс-факторов на экспрессию гена транскрипционного фактора CBF у растений огурца // *Докл. Академии наук*. Т. 423, № 2. (Совместно с В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой, И. Е. Малышевой.)

Экспрессия генов транскрипционного фактора WRKY и белков холодового шока у растений пшеницы при холодовой адаптации // *Докл. Академии наук*. Т. 423, № 4. (Совместно с В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой, И. Е. Малышевой, Ю. В. Венжик, С. А. Фроловой.)

Структурно-функциональные особенности растений *Triticum aestivum* (Poaceae) на начальном этапе холодовой адаптации // *Ботан. журн.* Т. 93, № 9. (Совместно с Ю. В. Венжик, С. А. Фроловой, Н. К. Котеевой, Е. А. Мирославовым.)

Активность протеолитических ферментов и ингибиторов трипсина в листьях пшеницы в начальный период действия и в последствии низкой закалывающей температуры // *Известия РАН, сер. биол.* № 5. (Совместно с С. А. Фроловой.)

Роль пигментов в формировании фотопротекторных свойств растений // *Усп. соврем. биологии*. Т. 128, № 4. (Совместно с О. Н. Лебедевой, Е. Б. Стафеевой, Т. С. Николаевской.)

2009. Изменение свето-температурной характеристики CO₂-обмена клевера красного в условиях холодового закалывания // *Докл. РАСХН*. № 1. (Совместно с Е. С. Холопцевой, Э. Г. Поповым, С. Н. Дроздовым.)

Влияние охлаждения корней на устойчивость клеток листьев и активность фотосинтетического аппарата пшеницы // *Докл. Академии наук*. Т. 427, № 3. (Совместно с Ю. В. Венжик, В. В. Талановой, Е. А. Назаркиной.)

Экспрессия генов транскрипционного фактора WRKY и стрессовых белков у растений пшеницы при холодовом закалывании и действии АБК // *Физиология растений*. Т. 56, № 5. (Совместно с В. В. Талановой, Л. В. Топчиевой, И. Е. Малышевой, Ю. В. Венжик, С. А. Фроловой.)

Устойчивость растений и фитогормоны. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН. (Совместно с В. В. Талановой.)

РЕЦЕНЗИИ И БИБЛИОГРАФИЯ

Титов А. Ф., Таланова В. В. Устойчивость растений и фитогормоны [отв. ред. Н. Н. Немова]. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2009. 206 с.

В монографии обобщены результаты многолетних исследований авторов и литературные данные, касающиеся феноменологии и механизмов устойчивости и адаптации растений к неблагоприятным факторам внешней среды. Представлены данные о роли трех «классических» фитогормонов (абсцизовой кислоты, ауксинов, цитокининов) в регуляции устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды абиотической природы (низким и высоким температурам, засолению, тяжелым металлам). Особое внимание уделено участию фитогормонов в неспецифических (общих) и

специализированных механизмах формирования повышенной устойчивости растений к действию неблагоприятных факторов.

Для научных работников, преподавателей, аспирантов и студентов вузов.

Titov A. F., Talanova V. V. Plant Resistance and Phytohormones [Editor-in-Chief N. N. Nemova]. Petrozavodsk: Karelian Research Centre of RAS, 2009. 206 p.

The monograph summarizes the results of years of research the authors have implemented as well as data from the literature concerning the phenomenology and mechanisms of plant resistance and adaption to adverse environmental conditions. Data are presented on the role of three «classical» plant hormones (abscisic acid, auxins, cytikinins) in regulating plant resistance to unfavourable abiotic environment factors (low and high temperatures, high salinity, heavy metals). Special focus is on the participation of plant hormones in non-specific (general) and specialized mechanisms of formation of high plant resistance to adverse ambience.

Meant for scientists, university professors, graduate and post-graduate students.

А.Ф. ТИТОВ, В.В. ТАЛАНОВА

Устойчивость растений и фитогормоны



Болдырев А. А., Кяйвяряйнен Е. И., Илюха В. А. Биомембранология. Красноярск: Сиб. федеральный университет, 2008. 182 с.

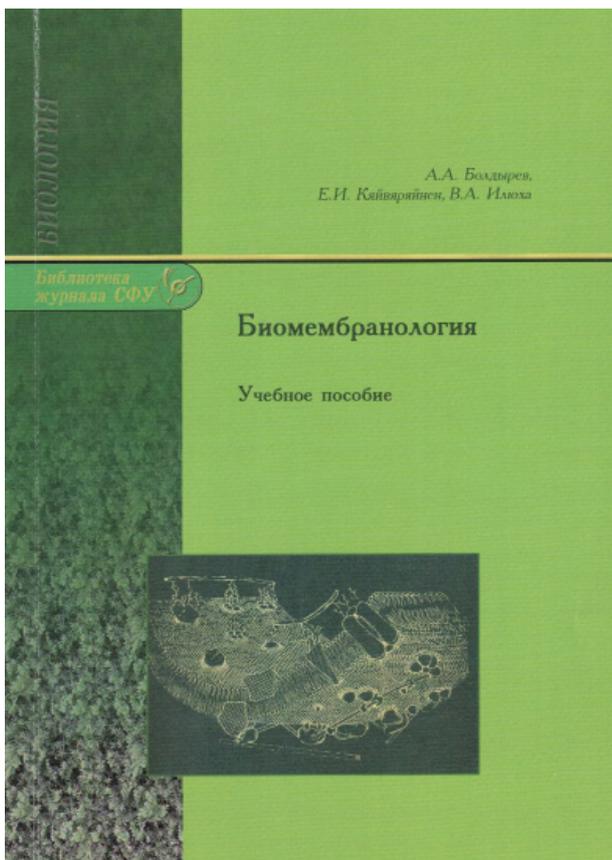
Учебное пособие «Биомембранология» описывает основные закономерности строения и функционирования клеточных мембран. Написано на основании анализа современных достижений клеточной биологии, нейрохимии и иммунологии, во многом отражает экспериментальный опыт самих авторов, много лет работающих в этой области естествознания. Книга подводит итог чтения курса по этой специальности в МГУ им. М. В. Ломоносова, Петрозаводском и Тюменском государственных университетах, а также в Университете штата Нью-Йорк (США).

Рекомендуется для студентов и аспирантов естественнонаучных вузов и институтов, специализирующихся в области биохимии, органической химии, биотехнологии, физиологии и психологии, а также для специалистов, изучающих широкий круг биологических явлений.

Boldyrev A. A., Kyaivyaryainen E. I., Ilyukha V. A. Biomembranology. Krasnoyarsk: Siberian Federal University Publishers, 2008. 182 p.

The Biomembranology textbook describes the main patterns in the structure and function of cell membranes. It is based on the analysis of latest achievements in cell biology, neurochemistry and immunology, and largely reflects the experimental experience of the authors, who have worked in this sphere of the natural science for many years. The book draws the bottom line of the course in this discipline given at the Moscow State University, Petrozavodsk and Tyumen' State Universities, as well as at the State University of New York (the USA).

It would be of use for graduate and post-graduate students of natural sciences and of institutes specializing in biochemistry, organic chemistry, biotechnology, physiology and psychology, as well as for researchers of a wide range of biological phenomena.



ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

(требования к работам, представляемым к публикации
в «Трудах Карельского научного центра Российской академии наук»)

«Труды Карельского научного центра Российской академии наук» (далее – Труды КарНЦ РАН) публикуют результаты завершённых оригинальных исследований в различных областях современной науки: теоретические и обзорные статьи, сообщения, материалы о научных мероприятиях (симпозиумах, конференциях и др.), персоналии (юбилеи и даты, потери науки), статьи по истории науки. Представляемые работы должны содержать новые, ранее не публиковавшиеся данные.

Статьи проходят обязательное рецензирование. Решение о публикации принимается редакционной коллегией серии или тематического выпуска Трудов КарНЦ РАН после рецензирования, с учетом научной значимости и актуальности представленных материалов. Редакция серий и отдельных выпусков Трудов КарНЦ РАН оставляет за собой право возвращать без регистрации рукописи, не отвечающие настоящим правилам.

При получении редакцией рукопись регистрируется (в случае выполнения авторами основных правил ее оформления) и направляется на отзыв рецензентам. Отзыв состоит из ответов на типовые вопросы «Анкет» и может содержать дополнительные расширенные комментарии. Кроме того, рецензент может вносить замечания и правки в текст рукописи. Авторам высылается электронная версия «Анкет» и комментарии рецензентов. Доработанный экземпляр автор должен вернуть в редакцию вместе с первоначальным экземпляром и ответом на все вопросы рецензента не позднее, чем через месяц после получения рецензии. Перед сдачей в печать авторам высылается распечатанная версия статьи, которая вычитывается, подписывается авторами и возвращается в редакцию.

Почтовый адрес редакции: 185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11, КарНЦ РАН, редакция Трудов КарНЦ РАН. Телефон: (8142) 780109.

Содержание номеров Трудов КарНЦ РАН и другая полезная информация, включая настоящие Правила, доступна на сайте <http://transactions.krc.karelia.ru>.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСИ

Статьи публикуются на русском или английском языке. Рукописи должны быть тщательно выверены и отрецензированы авторами.

Статьи должны быть подписаны всеми авторами.

Объем рукописи (включая таблицы, список литературы, подписи к рисункам, рисунки) не должен превышать: для обзорных статей – 30 страниц, для оригинальных – 25, для сообщений – 15, для хроники и рецензий – 5–6. Объем рисунков не должен превышать 1/4 объема статьи. Рукописи большего объема (в исключительных случаях) принимаются при достаточном обосновании по согласованию с ответственным редактором.

Рукописи присылаются в электронном виде, а также в двух экземплярах, напечатанных на одной стороне листа формата А4 в одну колонку через 1,5 интервала (12 пунктов шрифта типа Times New Roman). Размер полей: сверху, снизу – 2,5 см, справа, слева – 2,5 см. Все страницы, включая список литературы и подписи к рисункам, должны иметь сплошную нумерацию в нижнем правом углу. Страницы с рисунками не нумеруются.

ОБЩИЙ ПОРЯДОК РАСПОЛОЖЕНИЯ ЧАСТЕЙ СТАТЬИ

Элементы статьи должны располагаться в следующем порядке: *УДК* курсивом на первой странице, в левом верхнем углу; заглавие статьи на русском языке заглавными буквами полужирным шрифтом; инициалы, фамилии всех авторов на русском языке полужирным шрифтом; полное название организации – место работы каждого автора в именительном падеже на русском языке курсивом (если авторов несколько и работают они в разных учреждениях, то следует отметить арабскими цифрами соответствие фамилий авторов учреждениям, в которых они работают; если все авторы статьи работают в одном учреждении, можно не указывать место работы каждого автора отдельно); аннотация на русском языке; ключевые слова на русском языке; инициалы, фамилии всех авторов на английском языке полужирным шрифтом; название статьи на английском языке заглавными буквами полужирным шрифтом; аннотация на английском языке; ключевые слова на английском языке; текст статьи (статьи экспериментального характера, как правило, должны иметь разделы: ВВЕДЕНИЕ. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. ВЫВОДЫ. ЛИТЕРАТУРА); благодарности; литература (с новой страницы); таблицы (на отдельном листе); рисунки (на отдельном листе); подписи к рисункам (на отдельном листе).

На отдельном листе дополнительные сведения об авторах: фамилия, имя, отчество всех авторов полностью на русском и английском языках; полный почтовый адрес каждой организации (страна, город) на русском и английском языках; должности авторов; адрес электронной почты для каждого автора; телефон для контактов с авторами статьи (можно один на всех авторов).

ЗАГЛАВИЕ СТАТЬИ должно точно отражать содержание статьи* и содержать не более 8–10 значащих слов. **АННОТАЦИЯ** должна быть лишена вводных фраз, содержать только главную информацию статьи, не превышать объем – 15 строк.

Отдельной строкой приводится перечень **КЛЮЧЕВЫХ СЛОВ**. Ключевые слова или словосочетания отделяются друг от друга запятой, в конце фразы ставится точка.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ должны содержать сведения об объекте исследования с обязательным указанием латинских названий и сводок, по которым они приводятся, авторов классификаций и пр. Транскрипция географических названий должна соответствовать атласу последнего года издания. Единицы физических величин приводятся по Международной системе СИ. Желательна статистическая обработка всех количественных данных. Необходимо возможно точнее обозначать местонахождения (в идеале – с точным указанием географических координат).

ИЗЛОЖЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ должно заключаться не в пересказе содержания таблиц и графиков, а в выявлении следующих из них закономерностей. Автор должен сравнить полученную им информацию с имеющейся в литературе и показать, в чем заключается ее новизна. Для фаунистических и флористических работ следует указывать место хранения коллекционных образцов. Если в статье приводятся сведения о новых для исследованной территории таксонах, то желательно и процитировать этикетку. Следует ссылаться на табличный и иллюстративный материал так: на рисунки, фотографии и таблицы в тексте (рис. 1, рис. 2, табл. 1, табл. 2 и т. д.), фотографии, помещаемые на вкладышах (рис. I, рис. II). Обсуждение завершается формулировкой основного вывода, которая должна содержать конкретный ответ на вопрос, поставленный во Введении. Ссылки на литературу в тексте даются фамилиями, например: Карху, 1990 (один автор); Раменская, Андреева, 1982 (два автора); Крутов и др., 2008 (три автора или более), и заключаются в квадратные скобки. При перечислении нескольких источников работы располагаются в хронологическом порядке, например: [Иванов, Топоров, 1965; Успенский, 1982; Erwin et al., 1989; Рыбаков, 1994; Longman, 2001].

ТАБЛИЦЫ нумеруются в порядке упоминания их в тексте, каждая таблица имеет свой заголовок. На полях рукописи (слева) карандашом указываются места расположения таблиц при первом упоминании их в тексте. Диаграммы и графики не должны дублировать таблицы. Материал таблиц должен быть понятен без дополнительного обращения к тексту. Все сокращения, использованные в таблице, должны быть пояснены в Примечании, расположенном под ней. При повторении цифр в столбцах нужно их повторять, при повторении слов – в столбцах ставить кавычки. Таблицы могут быть книжной или альбомной ориентации (при соблюдении вышеуказанных параметров страницы).

РИСУНКИ представляются отдельными файлами с расширением TIF (*.TIF) или JPG (не встраивать в Word). Графические материалы должны быть снабжены распечатками с указанием желательного размера рисунка в книге, пожеланий и требований к конкретным иллюстрациям. На каждый рисунок должна быть как минимум одна ссылка в тексте. Иллюстрации объектов, исследованных с помощью фотосъемки, микроскопа (оптического, электронного трансмиссионного и сканирующего), должны сопровождаться масштабными линейками, причем в подрисуночных подписях надо указать длину линейки. Приводить данные о кратности увеличения необязательно, поскольку при публикации рисунков размеры изменятся. Крупномасштабные карты желательно приводить с координатной сеткой, обозначениями населенных пунктов и/или названиями физико-географических объектов и разной фактурой для воды и суши. В углу карты желательна врезка с мелкомасштабной картой, где был бы указан участок, увеличенный в крупном масштабе в виде основной карты.

ПОДПИСИ К РИСУНКАМ должны содержать достаточно полную информацию, для того чтобы приводимые данные могли быть понятны без обращения к тексту (если эта информация уже не дана в другой иллюстрации). Аббревиации расшифровываются в подрисуночных подписях.

ЛАТИНСКИЕ НАЗВАНИЯ. В расширенных латинских названиях таксонов не ставится запятая между фамилией авторов и годом, чтобы была понятна разница между полным названием таксона и ссылкой на публикацию в списке литературы. Названия таксонов рода и вида печатаются курсивом. Вписывать латинские названия в текст от руки недопустимо. Для флористических, фаунистических и таксономических работ при первом упоминании в тексте и таблицах приводится русское название вида (если такое название имеется) и полностью – латинское, с автором и, желательно, с годом, например: водяной ослик (*Asellus aquaticus* (L. 1758)). В дальнейшем можно употреблять только русское название или сокращенное латинское без фамилии автора и года опубликования, например, для брюхоногого моллюска *Margarites groenlandicus* (Gmelin 1790) – *M. groenlandicus* или для подвида *M. g. umbilicalis*.

СОКРАЩЕНИЯ. Разрешаются лишь общепринятые сокращения — названия мер, физических, химических и математических величин и терминов и т. п. Все сокращения должны быть расшифрованы, за исключением небольшого числа общеупотребительных.

* Названия видов приводятся на латинском языке **КУРСИВОМ**, в скобках указываются высшие таксоны (семейства), к которым относятся объекты исследования.

БЛАГОДАРНОСТИ. В этой рубрике выражается признательность частным лицам, сотрудникам учреждений и фондам, оказавшим содействие в проведении исследований и подготовке статьи, а также указываются источники финансирования работы.

ЛИТЕРАТУРА. Пристатейные ссылки и/или списки пристатейной литературы следует оформлять по ГОСТ Р 7.0.5-2008. Библиографическая ссылка. Общие требования и правила составления (http://www.bookchamber.ru/GOST_P_7.0.5.-2008). Список работ представляется в алфавитном порядке. Все ссылки даются на языке оригинала (названия на японском, китайском и других языках, использующих нелатинский шрифт, пишутся в русской транскрипции). Сначала приводится список работ на русском языке и на языках с близким алфавитом (украинский, болгарский и др.), а затем – работы на языках с латинским алфавитом. В списке литературы между инициалами ставится пробел.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ 1-Й СТРАНИЦЫ

УДК 631.53.027.32 : 635.63

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ПРЕДПОСЕВНОГО ЗАКАЛИВАНИЯ СЕМЯН НА ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА

Е. Г. Шерудило¹, М. И. Сысоева¹, Г. Н. Алексейчук², Е. Ф. Марковская¹

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН

² Институт экспериментальной ботаники НАН Республики Беларусь им. В. Ф. Купревича

Аннотация на русском языке

Ключевые слова: *Cucumis sativus* L., кратковременное снижение температуры, устойчивость.

E. G. Sherudilo, M. I. Sysoeva, G. N. Alekseichuk, E. F. Markovskaya. EFFECTS OF DIFFERENT REGIMES OF SEED HARDENING ON COLD RESISTANCE IN CUCUMBER PLANTS

Аннотация на английском языке

Key words: *Cucumis sativus* L., temperature drop, resistance.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ТАБЛИЦЫ

Таблица 2

Частота встречаемости видов нематод в исследованных биотопах

Биотоп (площадка)	Кол-во видов	Встречаемость видов нематод в 5 повторностях				
		100 %	80 %	60 %	40 %	20 %
1Н	26	8	4	1	5	8
2Н	13	2	1	1	0	9
3Н	34	13	6	3	6	6
4Н	28	10	5	2	2	9
5Н	37	4	10	4	7	12

Примечание. Здесь и в табл. 3–4: биотоп 1Н – территория, заливаемая в сильные приливы; 2Н – постоянно заливаемый луг; 3Н – редко заливаемый луг; 4Н – незаливаемая территория; 5Н – периодически заливаемый луг.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ ПОДПИСИ К РИСУНКУ

Рис. 1. Северный точильщик (*Hadrobregmus confuses* Kraaz.)

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ СПИСКА ЛИТЕРАТУРЫ

Ссылки на книги

Вольф Г. Н. Дисперсия оптического вращения и круговой дихроизм в органической химии / ред. Г. Снатцке. М.: Мир, 1970. С. 348–350.

Илиел Э. Стереохимия соединений углерода / пер. с англ. М.: Мир, 1965. 210 с.

Несис К. Н. Океанические головоногие моллюски: распространение, жизненные формы, эволюция. М.: Наука, 1985. 285 с.

Knorre D. G., Laric O. L. Theory and practice in affinity techniques / Eds. P. V. Sundaram, F. L. Eckstein. N. Y., San Francisco: Acad. Press, 1978. P. 169–188.

Ссылки на статьи

Викторов Г. А. Межвидовая конкуренция и сосуществование экологических гомологов у паразитических перепончатокрылых // Журн. общ. биол. 1970. Т. 31, № 2. С. 247–255.

Grove D. J., Loisesides L., Nott J. Satiation amount, frequency of feeding and emptying rate in *Salmo gairdneri* // J. Fish. Biol. 1978. Vol. 12, N 4. P. 507–516.

Ссылки на материалы конференций

Марьинских Д. М. Разработка ландшафтного плана как необходимое условие устойчивого развития города (на примере Тюмени) // Экология ландшафта и планирование землепользования: тезисы докл. Всерос. конф. (Иркутск, 11–12 сент. 2000 г.). Новосибирск, 2000. С. 125–128.

Ссылки на авторефераты диссертаций

Шефтель Б. И. Экологические аспекты пространственно-временных межвидовых взаимоотношений землероек Средней Сибири: автореф. дис. ...канд. биол. наук. М., 1985. 23 с.

Ссылки на диссертации

Шефтель Б. И. Экологические аспекты пространственно-временных межвидовых взаимоотношений землероек Средней Сибири: дис. ...канд. биол. наук. М., 1985. С. 21–46.

Ссылки на патенты

Патент РФ № 2000130511/28, 04.12.2000.

Еськов Д. Н., Серегин А. Г. Оптико-электронный аппарат // Патент России № 2122745. 1998. Бюл. № 33.

Ссылки на архивные материалы

Гребенщиков Я. П. К небольшому курсу по библиографии : материалы и заметки, 26 февр. – 10 марта 1924 г. // ОР РНБ. Ф. 41. Ед. хр. 45. Л. 1–10.

Ссылки на Интернет-ресурсы

Паринов С. И., Ляпунов В. М., Пузырев Р. Л. Система Соционет как платформа для разработки научных информационных ресурсов и онлайн-сервисов // Электрон. б-ки. 2003. Т. 6, вып. 1. URL: <http://www.elbib.ru/index.phtml?page=elbib/rus/journal/2003/part1/PLP/> (дата обращения: 25.11.2006).

Ссылки на электронные ресурсы на CD-ROM

Государственная Дума, 1999-2003 [Электронный ресурс]: электронная энциклопедия/Аппарат Гос. Думы Федер. Собрания Рос. Федерации. М., 2004. 1 CD-ROM.

CONTENTS

From editor	3
L. V. Anikieva, N. N. Tyutyunnik, V. S. Anikanova. NON-SPECIFIC FACTORS OF IMMUNITY IN ARCTIC FOXES (<i>ALOPEX LAGOPUS</i> L.) WITH TOXASCARIDOSIS	4
E. V. Borvinskaya, L. P. Smirnov, N. N. Nemova. GLUTATHIONE-S-TRANSFERASES IN FISH – INDICATORS OF HUMAN IMPACT ON THE AQUATIC ENVIRONMENT (REVIEW)	8
A. G. Borisova, T. N. Ilyina, S. N. Kalinina, I. V. Baishnikova, L. B. Uzenbaeva, V. A. Ilyukha. ON SEVERAL FACTORS INFLUENCING INTRA- AND INTER-SPECIES HAEMOLYTIC STABILITY OF ERYTHROCYTES IN MAMMALS	20
A. S. Goryunov, A. G. Borisova, S. P. Rozhkov, G. A. Sukhanova, N. N. Rozhkova. MORPHOLOGY AND AGGREGATION OF ERYTHROCYTES IN CARBON NANODISPERSIONS	30
M. V. Gritskikh, T. S. Nikolaevskaya, L. V. Topchieva, O. M. Fedorenko. GENETIC AND MORPHOPHYSIOLOGICAL FEATURES OF NATURAL NORTHERN POPULATIONS OF <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> (L.) HEYNH.	38
A. A. Erkoeva, E. S. Kholoptseva. INFLUENCE OF AMBIENT ACIDITY ON GERMINATION OF SCOTS PINE (<i>PINUS SYLVESTRIS</i> L.) SEEDS OF DIFFERENT PROVENANCE	46
N. M. Kaznina, A. F. Titov, G. F. Laidinen, J. V. Batova. EFFECT OF INDUSTRIAL HEAVY METAL POLLUTION OF SOIL ON THE MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF <i>PHLEUM PRATENSE</i> L.	50
O. N. Lebedeva, T. S. Nikolaevskaya, A. F. Titov. PIGMENT MUTATION LOAD AND SURVIVAL RATE OF PLANTS IN <i>FESTUCA PRATENSIS</i> HUDS. MUTATION BASED PROGENY	56
E. F. Markovskaya, E. G. Sherudilo, P. O. Ripatti, M. I. Sysoeva. ROLE OF LIPIDS IN RESISTANCE OF CUCUMBER COTYLEDONS TO CONTINUOUS AND SHORT-TERM PERIODIC EFFECT OF LOW HARDENING TEMPERATURES	67
T. A. Sazonova, V. B. Pridacha. EFFECT OF INDUSTRIAL POLLUTION ON MINERAL AND WATER METABOLISM IN PINE AND SPRUCE	75
E. A. Spiridonova, M. I. Sysoeva, E. G. Sherudilo, T. G. Shibaeva. RESPONSES OF CUCUMBER PLANTS TO SHORT- AND LONG-TERM TEMPERATURE DROP AT DIFFERENT PHOTOPERIODS	86
A. F. Titov, Yu. V. Venzhik, V. V. Talanova, S. A. Frolova, A. V. Talanov, E. A. Nazarkina. THE NATURE AND SEQUENCE OF CHANGES IN THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF WINTER WHEAT PLANTS UNDER COLD HARDENING	93
CHRONICLE	
V. A. Ilyukha. IV international symposium «Modern problems and methods of ecological physiology and pathology of mammals introduced in zooculture» (Petrozavodsk, September 23–25, 2009)	98
DATES AND ANNIVERSARIES	
N. N. Nemova, E. M. Matveeva. Olga Lebedeva (on the 60th anniversary)	100
V. V. Talanova, A. M. Kryshen'. Alexandr Titov (on the 60th anniversary)	103
REVIEWS AND BIBLIOGRAPHY	110
INSTRUCTIONS FOR AUTHORS	112

Научное издание

**Труды Карельского научного центра
Российской академии наук**

№ 3, 2009

Серия ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ

*Печатается по решению
Президиума Карельского научного центра РАН*

Редактор Л. В. Кабанова
Оригинал-макет Г. А. Тимонен

Подписано в печать 30.12.2009. Формат 60x84¹/₈.
Гарнитура Pragmatica. Печать офсетная. Уч.-изд. л. 10,6. Усл. печ. л. 13,5.
Тираж 500 экз. Изд. № 86. Заказ 857

Карельский научный центр РАН
Редакционно-издательский отдел
185003, г. Петрозаводск, пр. А. Невского, 50

