

ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 582.892;681.1/.5(571.63)

МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ СМЕНЫ СТРАТЕГИИ АДАПТАЦИИ ЖЕНЫШЕНЯ (*PANAX GINSENG* C.A. MEYER) ПРИ ОКУЛЬТУРИВАНИИ

© 2012 г. О. Л. Бурундукова, Л. А. Иванов, Л. А. Иванова, К. В. Киселёв, В. В. Маханьков,
Л. С. Лауве, Ю. А. Хроленко, Е. В. Бурковская, Т. А. Веливецкая,
А. В. Игнатъев, Т. И. Музарок, академик Ю. Н. Журавлёв

Поступило 05.05.2012 г.

Дикорастущий женьшень *Panax ginseng* C.A. Meyer — исчезающее лекарственное растение. Окультуривание “корня жизни” началось еще в первом веке до н. э. и было призвано восполнить ресурсы ценного лекарственного сырья. Однако в условиях искусственного воспроизводства лечебные свойства корня женьшеня ослабевают и содержание в нем основных биологически активных веществ — гинзенозидов — снижается [1]. Природа данного явления остается слабо исследованной. Известно, что химическая композиция листьев растений связана с экологической стратегией вида и закономерно изменяется в ряду типов стратегий Грайма: стресс-толерантная (S), конкурентная (C), рудеральная (R) [2]. Тип экологической стратегии вида генетически детерминирован и может быть экспериментально определен на основании морфологических и функциональных характеристик [3–6]. Для большинства видов растений, используемых в сельском хозяйстве (кукуруза, подсолнечник, ячмень и т.д.), Граймом [3] определен тип экологической стратегии: смешанная, конкурентно-рудеральная, в то время как для дикорастущего женьшеня характерна ярко выраженная стресс-толерантная стратегия выживания [7]. Эта стратегия, однако, не обеспечивает высоких выходов биомассы и не может быть основой для селекционного процесса при окультуривании. Нами было выдвинуто и проверено предположение, что окультуривание

стресс-толерантного вида сопряжено с изменением его стратегии адаптации.

Проведенные исследования показали, что адаптация стресс-толерантного вида в условиях плантации осуществляется посредством системных структурно-функциональных перестроек на организменном, тканевом, клеточном, а также биохимическом и молекулярно-генетическом уровнях организации растений. Направленность выявленных морфо-функциональных перестроек у женьшеня свидетельствует об ослаблении стресс-толерантных и усилении конкурентных и рудеральных свойств. Такое изменение стратегии адаптации может быть причиной ослабления активности вторичного метаболизма и снижения содержания гинзенозидов при окультуривании женьшеня.

Объектами исследования служили 25–35-летние дикорастущие и соответствующие им по стадии развития генеративные 4–6-летние плантационные растения, собранные в различных районах Приморского края. Методы исследования морфологических, мезоструктурных, цитогенетических признаков приведены ранее в работах [4, 5, 7, 8]. Содержание гинзенозидов измеряли на хроматографе (LaChrom, “Merk Hitachi”, Япония) по ранее описанной методике [9]. Экспрессию генов скваленсинтазы (*PgSSI*) и дамарандиолсинтазы (*PgDDS*) определяли методом ПЦР в реальном времени на iCycler-амплификаторе с оптическим блоком iQ5 (“Bio-Rad Laboratories”, США) согласно работе [10]. Соотношение изотопов углерода ($\delta^{13}\text{C}$), выраженное в промилях (‰), определяли масс-спектрометрическим методом (MAT-253; “ThermoQuest”, Германия). В качестве стандарта для углерода использовали PDB (Pee Dee Belemnite). Точность определения величины $\delta^{13}\text{C}$ составляла $\pm 0.1\text{‰}$. Достоверность различий разновидностей оценивали по критерию Манна–Уитни [11].

Обнаружено, что в распределении биомассы по органам у плантационных растений доля плодов в ходе адаптации увеличилась, а корней сни-

Биолого-почвенный институт
Дальневосточного отделения
Российской Академии наук, Владивосток
Тихоокеанский институт биоорганической химии
Дальневосточного отделения
Российской Академии наук, Владивосток
Ботанический сад Уральского отделения
Российской Академии наук, Екатеринбург
Дальневосточный геологический институт
Дальневосточного отделения
Российской Академии наук, Владивосток

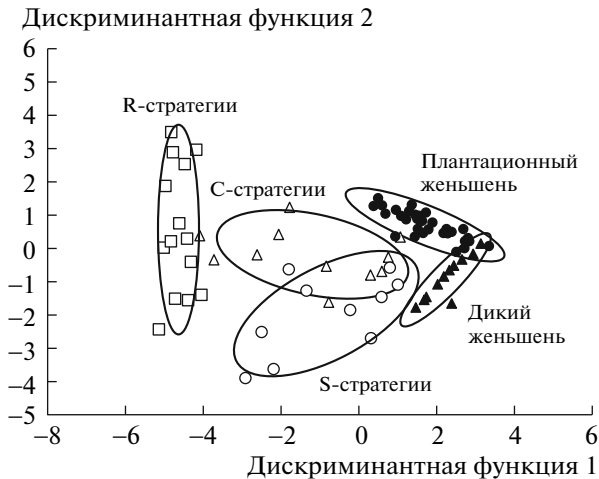


Рис. 1. Дискриминантный анализ выборок растений дикорастущего и плантационного женьшеня совместно с типичными представителями типов стратегий: конкурентной, рудеральной и стресс-толерантной по параметрам распределения биомассы по органам растений. Максимальные факторные нагрузки имели следующие признаки: по дискриминантной функции 1 — индекс корней (0.9), индекс стеблей (−0.7); по дискриминантной функции 2 — индекс листьев (−0.8) и индекс плодов (0.7). Данные по распределению биомассы по органам растений с разными типами экологических стратегий (R-стратегии, C-стратегии, S-стратегии) использованы из работы [4].

зилась. Это привело к увеличению суммарной доли акцепторных органов (корни и плоды) на 12.3% и уменьшению вдвое доли донорных органов (листья). Отмеченные изменения свидетельствуют о существенном отклонении морфологии культурных растений от эволюционно сложившегося в условиях природных местообитаний стресс-толерантного морфотипа дикого женьшеня. Дискриминантный анализ морфометрических признаков женьшеня и типичных представителей S-, R-, C-типов стратегий показал расхождение выбо-

рок дикой и культурной разновидности, при этом дикие растения женьшеня имели близкое сходство с S-стратегиями, а плантационные значительно от них отличались (рис. 1). Это свидетельствует о том, что в условиях культуры большее развитие приобрели признаки, характерные для типа экологических стратегий конкурентной и рудеральной, а именно: C-тип — увеличение площади листьев, биологической продуктивности, доли стеблей и плодов [4], R-тип — ускорение темпов развития, сокращение жизненного цикла, увеличение семенной продуктивности [3] (табл. 1, рис. 1).

В работах В.И. Пьянкова [2, 5, 6] показано, что макроскопические свойства растений с разными типами стратегий (скорость роста, морфотип, устойчивость к факторам среды) обусловлены особенностями организации метаболизма и биохимических процессов: для растений S-типа характерно высокое содержание вторичных соединений, требующих для своего синтеза больших затрат энергии, обеспечивающих защитную функцию, тогда как C-тип и в наибольшей степени R-тип ориентированы только на обеспечение ростовых процессов и быстрое формирование генеративных органов. Известные в теории Раменского—Грайма—Пьянкова закономерности системных перестроек растений в ряду S → C → R-типов экологических стратегий позволили нам прогнозировать основные морфофункциональные изменения, которые женьшень претерпел в процессе окультуривания. Мы предположили, что усиление C—R-свойств, обнаруженное нами у культурного женьшеня, может быть обеспечено сменой донорно-акцепторных отношений, повышением активности фотосинтетического аппарата и перестройкой мезоструктуры листа, повышением активности биосинтеза белка, снижением активности вторичного метаболизма, что и было экспериментально подтверждено. Изменение морфотипа у плантационного женьшеня привело к увеличению акцепторной нагрузки на донор —

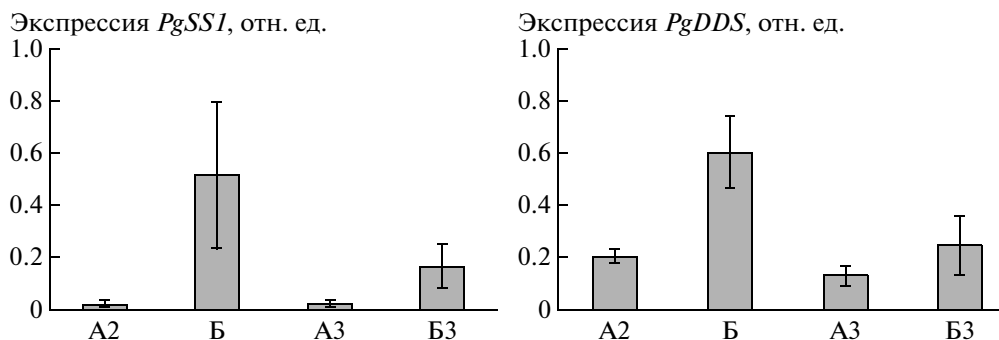


Рис. 2. Изменение уровней транскриптов генов *PgSSI* и *PgDDS* в молодых и сформированных листьях генеративных растений дикорастущего и плантационного женьшеня. A2 — молодой лист плантационного женьшеня; A3 — сформированный лист плантационного женьшеня; B — молодой лист дикорастущего женьшеня; B3 — сформированный лист дикорастущего женьшеня.

Таблица 1. Структурно-функциональные характеристики дикорастущего и плантационного *P. ginseng*

Параметр	Дикорастущий	Плантационный	Достоверность различий, <i>p</i>
Сухая масса растения, г	3.0 ± 0.3 (12)	15.5 ± 1.0 (35)	<0.001
Площадь листьев растения, см ²	360 ± 39 (12)	1061 ± 56 (35)	<0.001
Распределение биомассы по органам растения, %			
корень	62 ± 1 (12)	57 ± 1 (35)	<0.05
лист	22 ± 2 (12)	11 ± 0.3 (35)	<0.001
стебель	14 ± 0.3 (12)	17 ± 1 (35)	н.д.
плоды	3 ± 0.4 (12)	15 ± 1 (35)	<0.001
Удельная поверхностная плотность листа, мг/см ²	1.87 ± 0.1 (12)	3.18 ± 0.1 (13)	<0.05
Объем клетки, тыс. мкм ³	30.9 ± 2.1 (23)	51 ± 2.8 (30)	<0.001
A_{mes}/A , см ² /см ²	6.8 ± 0.4 (23)	9.8 ± 0.5 (30)	<0.001
A_{chl}/A , см ² /см ²	2.6 ± 0.1 (23)	3.9 ± 0.3 (30)	<0.001
Ядерно/ядрышковое отношение, мкм ² /мкм ²	28.3 ± 1.3 (3)	22.7 ± 1.1 (3)	<0.05
Содержание гинзенозидов в листьях, мг/г сух. массы			
активно растущий лист (июнь)	44.9 ± 2.7 (3)	25.4 ± 1.8 (3)	<0.05
сформированный лист (июль)	79.4 ± 6.7 (3)	54.9 ± 5.4 (3)	<0.05
Изотопный состав углерода $\delta^{13}C_{PDB}$, ‰	−34.6 ± 0.5 (7)	−30.3 ± 0.7 (7)	<0.05

Примечание. Приведены средние значения, стандартная ошибка среднего и число исследованных растений (в скобках). н.д. – недостоверно.

лист, что должно было привести к перестройке и повышению активности фотосинтетического аппарата.

Нами обнаружены существенные перестройки на уровне тканей и клеток мезофилла листа культивированных: возросла величина индексов мембран клеток A_{mes}/A (в 1.4 раза) и хлоропластов A_{chl}/A (в 1.9 раза), увеличился объем клеток мезофилла (в 1.7 раза), уменьшилось ядерно-ядрышковое отношение. Такое изменение структуры мезофилльной ткани у растений свидетельствует о повышении скорости ассимиляции CO₂ [12, 13], а структуры интерфазных ядер клеток – о более высокой активности первичного обмена [14]. Напротив, у дикой разновидности вторичный метаболизм, в частности биосинтез гинзенозидов, был более активен (табл. 1). Об этом же свидетельствует и усиление экспрессии ключевых генов биосинтеза гинзенозидов *PgSSI* и *PgDDS* (рис. 2).

О смене функционального состояния листа в условиях плантации также сигнализирует изменение соотношения стабильных изотопов углерода (¹³C/¹²C). Проведенные исследования показали, что содержание тяжелого изотопа углерода ¹³C в листьях плантационного женьшеня существенно выше, чем у дикорастущего (табл. 1). Это свидетельствует об изменении компонентного состава фотосинтетического газообмена (фотосинтеза, фотодыхания, дыхания). Пониженный уровень

первичного метаболизма у дикого женьшеня свидетельствует об относительно больших энергетических затратах на вторичный метаболизм.

Таким образом, впервые показано, что в условиях культивирования (агрофитоценоза) важную роль в перестройке стратегии адаптации стресс-толеранта приобретают черты конкурентной и рудеральной экологических стратегий, что связано с изменением экологических свойств: стресс-толерантные свойства у культурной формы ослабевают, а конкурентные и рудеральные усиливаются. Дальнейшее изучение механизмов пластичности экологической стратегии этого реликта позволит найти новые подходы к повышению эффективности селекции и разработке новых технологий его культивирования.

Работа выполнена в рамках интеграционного проекта УрО и ДВО РАН (№ 09-С-4-1014, № 09-П-УО-06-006) и гранта 124-ОБН-06.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Журавлев Ю.Н., Коляда А.С. Araliaceae: женьшень и другие. Владивосток: Дальнаука, 1996. 276 с.
2. Пьянков В.И., Иванов Л.А., Ламберс Х. // Экология. 2001. № 4. С. 243–254.
3. Grime J.P. Plant Strategies and Vegetation Processes. Chichester: Wiley, 1979. 222 p.
4. Пьянков В.И., Иванов Л.А. // Экология. 2000. № 1. С. 3–10.

5. Иванова Л.А., Пьянков В.И. // Физиология растений. 2002. Т. 49. № 3. С. 467–480.
6. Ryankov V.I., Ivanova L.A., Lambers H. Inherent Variation in Plant Growth. Physiological Mechanisms and Ecological Consequences. Leiden: Backhuys Publ., 1998. P. 71–87.
7. Бурундукова О.Л., Иванова Л.А., Иванов Л.А. и др. // Физиология растений. 2008. Т. 55. № 2. С. 268–271.
8. Хроленко Ю.А., Бурундукова О.Л., Лауве Л.С. и др. // Turczaninowia. 2011. Т. 14. № 1. С. 104–108.
9. Маханьков В.В., Бурундукова О.Л., Музарок Т.И. и др. // Раст. ресурсы. 2007. Т. 43. № 3. С. 107–115.
10. Kiselev K.V., Turlenko A.V., Zhuravlev Y.N. // Plant Cell Tissue and Organ Culture. 2010. V. 103. P. 197–204.
11. Сидоренко Е.В. Методы математической обработки в психологии. СПб.: Соц.-психол. центр, 1996. 349 с.
12. Nobel P.S., Walker D.B. In: Photosynthetic Mechanisms and the Environment. Biomedical Division. L.: Elsevier Sci. Publ., 1985. P. 501–536.
13. Araus J.L., Alegre L., Tapia L., Calafell R. // Journal of Experimental Botany. 1986. V. 37. № 182. P. 1323–1333.
14. Шахбазов В.Г., Шестопалова Н.Г. // ДАН. 1971. Т. 196. № 5. С. 1207–1208.