

Влияние радиационного фактора на содержание флавоноидов и морфометрические показатели на примере *Pentaphylloides fruticosa*

Е. П. ХРАМОВА¹, О. В. ТАРАСОВ², Е. И. КРЫЛОВА², А. В. ЛАВРЕНЧУК³

¹Центральный сибирский ботанический сад СО РАН
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101
E-mail: khramova@ngs.ru

²ФГУП Производственное объединение “Маяк”
456780, Озерск, Челябинской обл., ул. Ермолаева, 18

³Институт геологии и минералогии им. В. С. Соболева СО РАН
630090, Новосибирск, просп. Академика Коптюга, 3

АННОТАЦИЯ

Предпринята попытка оценить особенности влияния хронического действия радиации на изменчивость биохимических и морфометрических параметров *Pentaphylloides fruticosa*, выращенного в градиенте загрязнения радионуклидами ⁹⁰Sr и ¹³⁷Cs, и показать, используя коэффициент вариабельности (CV), анализ вариационных кривых распределения и дискриминантный анализ, что в зависимости от уровня облучения выборки различаются.

Ключевые слова: *Pentaphylloides fruticosa*, флавоноиды, морфометрические параметры, радиационный фактор, изменчивость, метод опорных векторов.

Изменчивость морфологических и биохимических параметров растительных организмов является важнейшей характеристикой, поскольку определяет способность адаптироваться к условиям внешней среды.

В качестве биохимических признаков у растений зачастую используются флавоноиды, поскольку они в меньшей степени подвергаются катаболическим превращениям и, следовательно, большее время сохраняют информацию о воздействии стресса на растительный организм [1–3]. Кроме того, флавоноиды определяют состояние природных и интродукционных популяций и их способность

к адаптации [4–6], в том числе к воздействию радиации.

К растениям, продуцирующим значительное количество флавоноидов, относится *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz – пятилистник кустарниковый, или курильский чай кустарниковый из сем. Rosaceae. По сведениям разных авторов, в растениях *P. fruticosa* они представлены в основном флавонолами, содержание которых варьирует от 2 до 14 % [7–9]. Из надземной части пятилистника кустарникового выделены и идентифицированы агликоны – кверцетин, кемпферол и 7,3',4'-три-О-метилкверцетин, не менее 5

флавонолгликозидов – кверцитрин, гиперозид, арабинопиранозид кверцетина, изокверцитрин и астрагалин и 3 ацилированных флавонолгликозида – 6''-О-галлат-3-β-D-галактопиранозид кверцетина, тернифлорин и трибулозид [10–15].

Задача исследования – выявление особенностей влияния хронического действия радиации на содержание флавоноидов (в сумме, по группам и индивидуальным компонентам) и морфометрические параметры *Pentaphylloides fruticosa*, выращенного в градиенте загрязнения радионуклидами ^{90}Sr и ^{137}Cs .

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В зоне Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРСа), который сформировался в 1957 г. в результате аварии на производственном объединении “Маяк”, заложены 3 пробные площадки с разным уровнем загрязнения радионуклидами ^{90}Sr и ^{137}Cs .

Участок 1 находится в головной части ВУРСа на оси следа в районе старой дороги с деревянным покрытием в 6 км от источника радиации, почвы серые лесные. Средняя плотность загрязнения по ^{90}Sr на время исследований составляла 133,5 МБк/м², по ^{137}Cs – 8,4 МБк/м², по Pu – до 96 кБк/м². Мощность эквивалентной дозы (МЭД) на уровне почвы равна $(3,10 \pm 0,80)$ мкЗв/ч, плотность потока β-частиц (ППБЧ) на поверхности почвы достигает (2180 ± 150) β-частиц/мин · см².

Участок 2 расположен на оси следа на южном берегу оз. Бердениш на серых лесных почвах на территории эвакуированной деревни в 12 км от места аварии 1957 г. Плотность загрязнения по ^{90}Sr во время исследований составляла 17 МБк/м², по ^{137}Cs – 0,9 МБк/м², по Pu – до 27 кБк/м². МЭД на поверхности почвы равна $(1,26 \pm 0,29)$ мкЗв/ч, ППБЧ – (820 ± 270) частиц/(мин · см²).

Участок 3 расположен в разреженном березняке к востоку от оз. Урускуль на серых лесных почвах в 15 км от места аварии. Плотность загрязнения по ^{90}Sr во время исследований составляла 0,07 МБк/м², по ^{137}Cs – 0,16 МБк/м². МЭД на поверхности почвы равна 0,16 мкЗв/ч, ППБЧ – 9 частиц/(мин · см²).

Изучали пятилетние растения пятилистника кустарникового, высаженные саженца-

ми в 2004 г. на каждом из трех участков. Саженцы выращены на экспериментальном интродукционном участке Горно-Алтайского филиала Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (АФ ЦСБС СО РАН, с. Камлак) из семян, собранных в природной ценопопуляции в окр. с. Бичикту-Бом Онгудайского района в Центральном Алтае.

С каждого растения в каждом из трех опытных участков равномерно по всей кроне отбирали по 5–10 годичных побегов в период начала бутонизации (18–20 июня 2007 г.), разделяли на листья и стебли и формировали среднюю пробу для последующего измерения морфометрических параметров и определения флавоноидов. Для определения содержания радионуклидов ^{90}Sr и ^{137}Cs формировали среднюю пробу листьев пятилистника кустарникового с каждого участка. Объем выборки (*n*) на 1-м участке равен 29, на втором и третьем – 25 и 30 соответственно.

Для измерения морфометрических параметров с каждого побега брали нижний лист и на свежесобранном материале проводили метрические измерения. Промер морфологических параметров выполнен методом компьютерного анализа изображений. Для измерения метрических параметров листа проводили съемку цифровой камерой в режиме “макро” с последующей обработкой снимков и интерпретацией результатов средствами геоинформационных технологий и электронных таблиц, используя программное обеспечение “MapInfo” и Microsoft Excel 2003. Исходное изображение сначала преобразовывали в декартову систему координат, затем проводили векторизацию растровых изображений с последующим вычислением морфометрических характеристик листовой пластинки – длины, ширины, площади, периметра [16]. Измеряли длину годичного побега и подсчитывали количество листьев на нем.

Анализ флавоноидов пятилистника кустарникового выполняли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [17] на жидкостном хроматографе Agilent 1100 (Agilent Technologies, США) с УФ-спектрофотометрическим детектором и программным обеспечением обработки хроматографических данных ChemStation. Подробное опи-

сание методики пробоподготовки, анализа и расчетов приведено нами ранее в работе [18].

Определение радионуклидов ^{90}Sr и ^{137}Cs проводили стандартными методами β - и γ -спектрометрии [19].

Среднее значение, ошибку среднего, стандартное отклонение, минимум, максимум, медиану и моду для всех признаков оценивали с помощью описательной статистики. Проверку гипотез о нормальности распределения количественных признаков проводили с помощью критерия Шапиро – Уилка (W -критерий Шапиро – Уилка). Для проверки гипотез о равенстве генеральных средних при нормальном распределении признаков использовали параметрический критерий коэффициент Стьюдента (t), при отклонении от нормального распределения – непараметрический критерий Манна – Уитни (U -критерий Манна – Уитни) при уровне значимости $p < 0,05$. Для разделения объектов по морфометрическим показателям и содержанию флавоноидов в зависимости от уровня облучения использовали метод опорных векторов (Support Vector Machine – SVM) [20]. Результаты обрабатывали с использованием стандартной программы “Statistica 6.0” и программного обеспечения Microsoft Excel 2003.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты измерения показали, что наибольшее количество ^{90}Sr и ^{137}Cs обнаружено в растениях из участка 1, расположенного в непосредственной близости к источнику загрязнения. По мере удаления от него содержание ^{90}Sr в листьях *P. fruticosa* из участков 2 и 3 снижается в 12 – 900 раз, ^{137}Cs – в 5–3 раза соответственно (табл. 1).

Анализ морфологических признаков пятилистника кустарникового, выращенного в условиях разного радионуклидного загрязнения (табл. 2), показал, что радиационное воздействие вызвало статистически значимое уменьшение поверхности листа и конечной доли, их длины и ширины, прироста годичного побега и длины черешка листа у растений с наиболее загрязненного участка 1 по сравнению с двумя другими ($t > 1,60$, $df_{1-2} = 53$, $df_{1-3} = 58$, $p < 0,05$). Минимальное количество листьев на годичном побеге отмечено у растений с участка 1. У растений из выборок 2 и

Т а б л и ц а 1

Удельная активность радионуклидов в листьях *Pentaphylloides fruticosa* из разных участков зоны ВУРСа (на воздушно-сухую массу)

№ участка	Стронций-90, кБк/кг	Цезий-137, Бк/кг
1	223 ± 26^1	$1,9 \pm 0,2$
2	$18,7 \pm 2,7$	$0,4 \pm 0,1$
3	$\leq 0,25 \pm 0,04$	$0,73 \pm 0,13$

¹ Среднее значение \pm ошибка среднего (при числе степеней свободы $f = 2$ и $P = 0,95$).

3 по мере снижения радиационной нагрузки наблюдалась тенденция к возрастанию поверхности конечной доли, ее периметра, длины и ширины, увеличению длины годичного побега и черешка листа, но различия между исследованными признаками статистически незначимы ($t < 0,77$, $df_{2-3} = 53$, $p > 0,4$), за исключением длины годичного побега. Следовательно, гипотеза о равенстве средних не принимается между выборками 1 и 2, 1 и 3 для всех морфологических показателей, за исключением показателя “количество листьев на побеге”, и принимается в выборках 2 и 3, исключая длину годичного побега. При этом установлено, что распределение показателей – “периметр листа” в выборке 1 и “количество листьев на побеге” в выборке 2 – значимо отличается от нормального ($W = 0,86$ при $p = 0,00127$ и $W = 0,80$ при $p = 0,00041$ соответственно). Остальные показатели соответствуют нормальному распределению.

В качестве биохимических признаков использовано содержание флавоноидов (в сумме, по группам и отдельным компонентам).

Исследование флавоноидного состава методом ВЭЖХ показало, что в экстрактах листьев пятилистника кустарникового, произрастающего в условиях разного радионуклидного загрязнения, содержится не менее 14 соединений флавоноидной природы (рис. 1).

При сравнении хроматограмм экстрактов исследуемых образцов выявлено, что качественный состав флавоноидного комплекса листьев пятилистника кустарникового из разных участков не изменяется.

Сопоставление времен удерживания пиков веществ на хроматограммах анализируемых образцов с временами удерживания

Морфометрические показатели (над чертой – среднее \pm ошибка средней) и их изменчивость (под чертой – коэффициент вариации CV в %) у *Pentaphylloides fruticosus* из разных участков ВУРСа

Морфометрический показатель	Участок ВУРСа		
	1 (n = 29)	2 (n = 25)	3 (n = 30)
Площадь листа, мм ²	<u>194,48\pm7,97*</u> 22	<u>305,15\pm17,90</u> 29	<u>302,13\pm16,86*</u> 31
Периметр », мм	<u>126,05\pm4,59*</u> 20	<u>162,67\pm5,71</u> 18	<u>156,68\pm5,21*</u> 18
Длина », мм	<u>15,49\pm0,40*</u> 14	<u>19,23\pm0,50</u> 13	<u>18,87\pm0,56*</u> 16
Ширина », мм	<u>22,75\pm0,51*</u> 12	<u>27,90\pm0,81</u> 15	<u>27,58\pm0,82*</u> 16
Площадь конечной доли, мм ²	<u>36,34\pm1,70*</u> 26	<u>55,69\pm3,54</u> 32	<u>57,61\pm3,04*</u> 29
Периметр того же, мм	<u>27,96\pm0,63*</u> 12	<u>33,48\pm1,09</u> 16	<u>33,73\pm0,93*</u> 15
Длина », мм	<u>12,31\pm0,29*</u> 13	<u>14,49\pm0,44</u> 15	<u>14,61\pm0,41*</u> 15
Ширина », мм	<u>4,63\pm0,12*</u> 14	<u>5,69\pm0,23</u> 20	<u>5,83\pm0,17*</u> 16
Длина черешка, мм	<u>8,93\pm0,25*</u> 15	<u>11,54\pm0,57</u> 25	<u>11,86\pm0,41*</u> 19
Длина годовичного побега, мм	<u>61,59\pm2,99*</u> 27	<u>68,54\pm3,09**</u> 22	<u>79,58\pm3,51*</u> 24
Число листьев, шт.	<u>6,6\pm0,2*</u> 15	<u>7,2\pm0,2</u> 17	<u>6,9\pm0,2</u> 15

П р и м е ч а н и е. * – различия статистически значимы между выборками 1 и 2, 1 и 3 $p < 0,05$ (t-критерий Стьюдента); ** – различия статистически значимы между выборками 2 и 3 $p < 0,05$ (t-критерий Стьюдента).

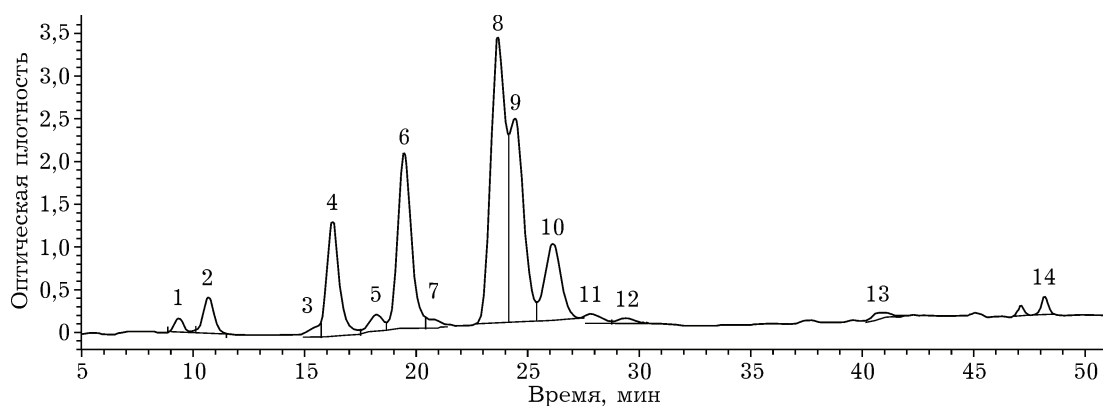


Рис. 1. Хроматограмма экстракта листьев *Pentaphylloides fruticosus* с участка 1 зоны ВУРСа

3 – гиперозид ($t_R = 15,70$ мин), 4 – изокверцитрин ($t_R = 16,24$ мин), 10 – кверцитрин ($t_R = 26,10$ мин), 11 – астрагалин ($t_R = 27,81$ мин), 13 – кверцетин ($t_R = 40,64$ мин.), 14 – кемпферол ($t_R = 48,14$ мин), 1, 2, 5-9, 12 – неидентифицированные компоненты

пиков стандартных образцов и УФ-спектрами позволили идентифицировать следующие флавонолгликозиды – гиперозид, изокверцитрин, кверцитрин и астрагалин, агликоны – кверцетин и кемпферол. Изокверцитрин и астрагалин выделены нами ранее из исследуемого растения, идентифицированы по результатам хроматографического анализа, данным спектроскопии УФ и ЯМР ^1H и ^{13}C [15] и использованы в данной работе в качестве метчиков. Остальные компоненты (1–2, 5–9, 12) пока не идентифицированы, но в процессе хроматографирования в режиме “online” зарегистрированы УФ-спектры некоторых из них. Компонент 1 имеет λ_{max} 265, 357 нм; компонент 2 – λ_{max} 284, 354 нм; компонент 5 – λ_{max} 257, 353 нм; компонент 6 – 257, 367 нм; компонент 7 – λ_{max} 252, 367 нм; компонент 8 – λ_{max} 255, 353 нм; компонент 9 – λ_{max} 255, 355 нм; компонент 12 – λ_{max} 254, 348 нм. На основании этих данных они отнесены к флавоноидным структурам.

Результаты определения содержания флавоноидов (в сумме, по группам и отдельным компонентам) в листьях *P. fruticosus* из разных по уровню загрязнения радионуклидами участков представлены в табл. 3. Общее содержание флавоноидов оценивали по сумме отдельных компонентов. Содержание флавонолов определяли как сумму гликозидов кверцетина и кемпферола и их свободных агликонов, гликозиды кверцетина и кемпферола по отдельности – по содержанию кверцетина и кемпферола, образовавшихся после кислотного гидролиза [18]. Установлено, что при сходном качественном составе флавоноидов есть некоторые различия в количественном содержании.

Проверка гипотезы нормальности, проведенная с помощью критериев Шапиро – Уилка, показала, что нормальному распределению во всех исследованных выборках соответствуют изокверцитрин ($W = 0,94-0,97$ при $p = 0,19-0,60$), компонент 8 ($W = 0,95-0,98$ при $p = 0,08-0,25$), общее содержание флавоноидов ($W = 0,92-0,96$ при $p = 0,051-0,38$), сумма флавонолов ($W = 0,95-0,98$ при $p = 0,53-0,93$), гликозиды кверцетина ($W = 0,96-0,98$ при $p = 0,45-0,93$), сумма гликозидов ($W = 0,96-0,98$ при $p = 0,54-0,92$); в выборках 1 и 2 – гликозиды кемпферола ($W = 0,94-0,93$ при $p = 0,17-0,09$); в выборках 1 и 3 – ком-

поненты 7, 9 и 12 ($W = 0,92-0,98$ при $p = 0,054-0,86$), сумма агликонов ($W = 0,93-0,94$ при $p = 0,064-0,10$); в выборке 2 и 3 – компонент 1 и астрагалин ($W = 0,93-0,97$ при $p = 0,13-0,81$); в выборке 2 – компонент 5 ($W = 0,92$ при $p = 0,06$) и в выборке 3 – кверцитрин ($W = 0,93$ при $p = 0,08$). Распределение оставшихся показателей статистически значимо отличается от нормального.

Отмечено, что с ростом радионуклидного загрязнения содержание индивидуальных компонентов – изокверцитрина, кверцитрина, астрагалина и кемпферола в листьях пятилистика кустарникового повышается, а концентрация компонента 7 снижается. Содержание остальных флавоноидных соединений с увеличением облучения изменяется нелинейно. Однако статистически значимое различие касалось только содержания компонентов 1, 12 и кверцетина между выборками 2 и 3 ($U_{\text{эмп}} = 95-252 < U_{\text{крит}} = 258$, $n_2 = 25$, $n_3 = 30$, $p \leq 0,05$), содержания изокверцитрина между выборками 1 и 3 ($U_{\text{эмп}} = 211 < U_{\text{крит}} = 305$, $n_{1,3} = 29-30$, $p \leq 0,05$), содержания компонента 5 и кверцетина между выборками 1 и 2 ($U_{\text{эмп}} = 206-86 < U_{\text{крит}} = 258$, $n_{1,2} = 25-29$, $p \leq 0,05$). Уровень изменчивости остальных признаков между исследованными выборками статистически незначим, что позволяет принять для них гипотезу о равенстве средних.

Общее содержание флавоноидов в листьях растений с ростом уровня загрязнения не изменяется ($U_{\text{эмп}} = 359 - 427 > U_{\text{крит}} = 249 - 305$, $n_{1-3} = 25 - 30$, $p \leq 0,05$). Сумма флавонолов, агликонов, гликозидов кверцетина и кемпферола в наибольших количествах обнаружена в листьях *P. fruticosus* из наиболее загрязненного радионуклидами участка 1. При этом различие статистически значимо только между выборками 1 и 2 ($U_{\text{эмп}} = 200-214 < U_{\text{крит}} = 249$, $n_{1-2} = 25-29$, $p \leq 0,05$), за исключением гликозидов кемпферола ($U_{\text{эмп}} = 319 > U_{\text{крит}} = 249$, $n_{1-2} = 25-29$, $p \leq 0,05$). Между выборками 1 и 3, 2 и 3 значимых различий по содержанию флавоноидов (в сумме и по группам) не отмечено. Таким образом, можно заключить, что полученные результаты наглядно показывают недостаточность оценки лучевого эффекта на уровне популяций по средним величинам.

Поэтому, попытались выявить особенности влияния хронического действия радиации

Т а б л и ц а 3

Биохимические показатели (над чертой – среднее \pm ошибка средней, мг/г абс. сух. массы) и их изменчивость (под чертой – коэффициент вариации CV, %) в листьях *Pentaphylloides fruticosus* из разных участков ВУРСа

Биохимический показатель	Участок ВУРСа		
	1 (n = 29)	2 (n = 25)	3 (n = 30)
Компонент 1	<u>0,84\pm0,08</u> 51	<u>0,94\pm0,07*</u> 37	<u>0,73\pm0,05**</u> 35
» 2	<u>2,81\pm0,30</u> 57	<u>2,01\pm0,22</u> 56	<u>2,26\pm0,17</u> 41
Гиперозид	<u>1,23\pm0,25</u> 109	<u>1,27\pm0,39</u> 152	<u>0,79\pm0,13</u> 90
Изокверцитрин	<u>3,68\pm0,24***</u> 34	<u>3,09\pm0,22</u> 36	<u>2,55\pm0,18</u> 39
Компонент 5	<u>0,61\pm0,08 ****</u> 75	<u>0,39\pm0,04</u> 49	<u>0,51\pm0,04</u> 40
» 6	<u>4,87\pm0,84</u> 93	<u>5,83\pm0,91</u> 78	<u>5,04\pm0,68</u> 73
» 7	<u>0,34\pm0,02</u> 36	<u>0,37\pm0,04</u> 56	<u>0,38\pm0,02</u> 27
» 8	<u>8,11\pm0,67</u> 45	<u>9,56\pm0,71</u> 37	<u>9,07\pm0,56</u> 34
» 9	<u>5,28\pm0,39</u> 40	<u>4,71\pm0,64</u> 68	<u>5,56\pm0,52</u> 51
Кверцитрин	<u>2,66\pm0,45</u> 90	<u>2,64\pm0,40</u> 77	<u>3,88\pm0,48</u> 68
Астрагалин	<u>0,32\pm0,02</u> 40	<u>0,32\pm0,03</u> 44	<u>0,35\pm0,02</u> 35
Компонент 12	<u>0,27\pm0,02</u> 43	<u>0,31\pm0,10</u> 167	<u>0,29\pm0,02**</u> 40
Кверцетин	<u>0,14\pm0,01****</u> 51	<u>0,07\pm0,01</u> 47	<u>0,12\pm0,01**</u> 33
Кемпферол	<u>0,27\pm0,02</u> 43	<u>0,25\pm0,04</u> 90	<u>0,24\pm0,02</u> 46
Общая сумма флавоноидов	<u>31,42\pm1,22</u>	<u>31,74\pm1,35</u>	<u>31,77\pm1,21</u>
В том числе:	<u>21</u>	<u>21</u>	<u>21</u>
сумма флавонолов	<u>26,84\pm1,21****</u> 24	<u>21,82\pm1,51</u> 35	<u>26,23\pm1,38</u> 29
сумма агликонов	<u>0,41\pm0,03****</u> 33	<u>0,32\pm0,05</u> 75	<u>0,36\pm0,02</u> 35
Гликозиды кверцетина	<u>25,76\pm1,20 ****</u> 25	<u>20,93\pm1,47</u> 35	<u>25,41\pm1,35</u> 29
» кемпферола	<u>0,66\pm0,07</u> 54	<u>0,58\pm0,07</u> 58	<u>0,47\pm0,05</u> 60
Сумма гликозидов	<u>26,42\pm1,21****</u> 25	<u>21,51\pm1,49</u> 35	<u>25,87\pm1,37</u> 29

П р и м е ч а н и е. * – жирным шрифтом выделены показатели, соответствующие нормальному распределению по критерию Шапиро–Уилка (W-критерий); ** – статистически значимы между выборками 2 и 3 $p < 0,05$ (U-критерий Манна – Уитни); *** – различия статистически значимы между выборками 1 и 3 $p < 0,05$ (U-критерий Манна – Уитни); **** – различия статистически значимы между выборками 1 и 2 $p < 0,05$ (U-критерий Манна – Уитни).

на изменчивость биохимических и морфометрических параметров *P. fruticosa*, используя коэффициент варибельности (CV), анализ вариационных кривых распределения и дискриминантный анализ.

Вариабельность некоторых морфометрических показателей у *P. fruticosa*, выращенных в условиях действия радиации, изменяется нелинейно (см. табл. 2). Однако практически во всех вариантах значения CV на 10–40 % выше в слабооблученной выборке 3 по сравнению с сильнооблученной выборкой 1, за исключением длины годовичного побега и периметра листа.

Анализ изменчивости биохимических параметров показал, что уровень варибельности признака “общая сумма флавоноидов” оценивается как средний (CV = 21 %) вне зависимости от уровня загрязнения участков (см. табл. 3). Вариабельность остальных суммарных признаков – флавонолов, гликозидов, гликозидов кверцетина – высокая (CV = 24–35 %) и очень высокая для гликозидов кемпферола (CV = 54 %). При этом в выборке со средним уровнем облучения значения CV выше. Изменчивость признаков “содержание индивидуальных компонентов” оценивается как высокая и аномально высокая. В семи случаях вариабельность признаков по

мере роста облучения повышается, в одном случае (содержание изокверцитрина) снижается, и у шести показателей отмечается нелинейность с повышенными значениями CV для компонентов из выборки 2. При этом изменчивость большинства индивидуальных компонентов из слабооблученной выборки 3 снижается в 1,1–1,9 раза по сравнению с таковыми из выборки 1 и в 1,1–4 раза по сравнению с выборкой 2. Изменчивость суммарных показателей в выборке 3, напротив, увеличивается на 10–15 % по сравнению с выборкой 1, но снижается в 1,1–2,1 раза по сравнению с выборкой 2. Более высокий уровень изменчивости индивидуальных показателей по сравнению с суммарными, очевидно, определяется функциональным значением отдельных флавоноидов, их активным участием в общих метаболических процессах [1, 4]. Кроме того, известно, что индивидуальные флавоноидные компоненты формируют разнонаправленные типы ответной реакции организма на радиационное воздействие, в связи с чем результирующий отклик сложен и противоречив.

Для описания характера вариационных кривых использованы меры формы распределения – асимметрия (A_s) и эксцесс (E_x). Как показали значения A_s и E_x (табл. 4), боль-

Т а б л и ц а 4

Распределение морфологических показателей в образцах *Pentaphylloides fruticosa* из разных участков ВУРСа

Признак	A_s			E_x		
	1 (n = 29)	2 (n = 25)	3 (n = 30)	1 (n = 29)	2 (n = 25)	3 (n = 30)
Площадь листа, мм ²	0,71	0,37	-0,10	0,52	<u>-1,18**</u>	-0,88
Периметр », мм	<u>1,63*</u>	0,24	0,35	<u>6,00</u>	-0,84	0,27
Длина », мм	0,15	-0,27	-0,32	0,63	<u>-1,24</u>	-0,78
Ширина », мм	0,47	-0,03	-0,31	0,05	<u>-1,29</u>	-0,84
Площадь конечной доли, мм ²	<u>0,92</u>	0,46	0,04	1,11	-0,97	-0,93
Периметр того же, мм	0,29	0,21	-0,13	0,33	-0,81	-1,04
Длина », мм	0,26	0,15	-0,39	-0,22	-0,81	-0,49
Ширина », мм	0,44	0,62	0,11	-0,23	-0,59	-0,88
Длина черешка, мм	0,07	0,45	0,30	0,82	1,01	0,65
Длина годовичного побега, мм	0,28	-0,30	<u>0,74</u>	<u>-1,19</u>	<u>1,56</u>	<u>1,18</u>
Число листьев, шт.	0,32	<u>-2,08</u>	0,05	-0,65	<u>6,17</u>	-0,12

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 5 * – значения A_s превышают критические значения $A_s = 0,66$ при $n = 30$ и $A_s = 0,71$ при $n = 25$ для уровня значимости $p = 0,05$; ** – значения E_x превышают критические значения в диапазоне $[-1,02 \div 1,11]$ при $n = 30$ и $[-1,09 \div 1,16]$ при $n = 25$ для уровня значимости $p = 0,05$, Критические значения A_s и E_x приведены в [28].

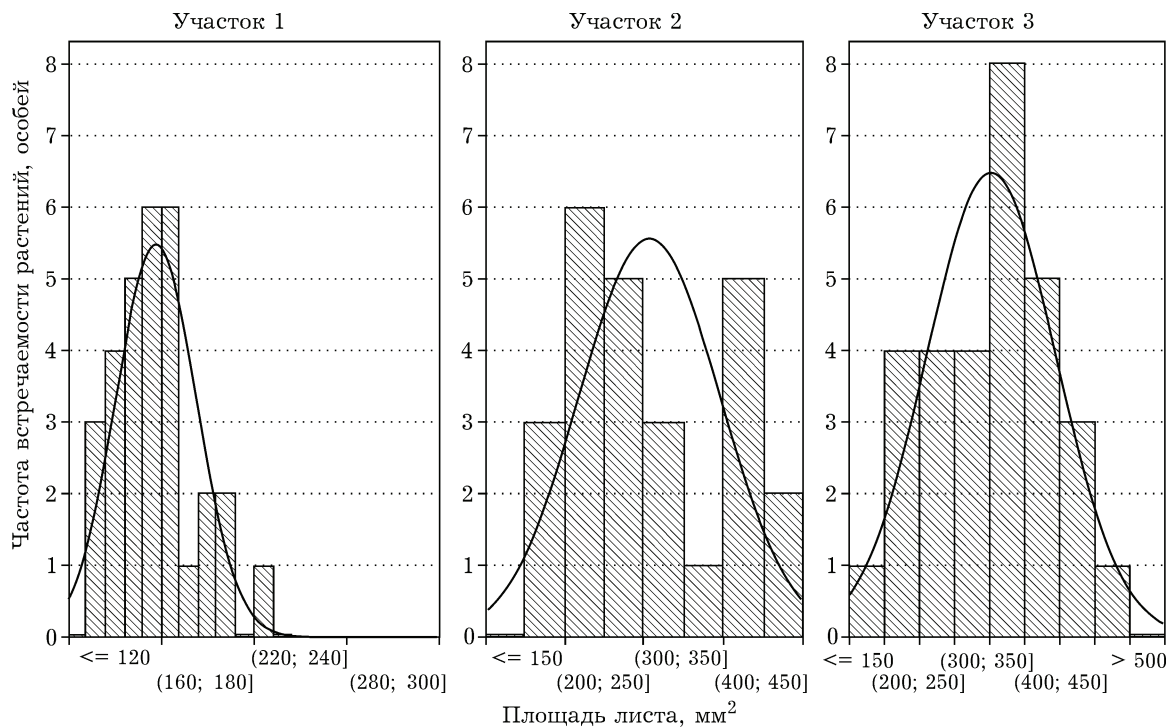


Рис. 2. Вариационные кривые распределения растений *P. fruticosa* из разных участков Восточно-Уральского радиационного следа (ВУРС) по признаку "площадь листа"

большинство морфологических признаков распределялось по нормальному закону, что согласуется с проведенной проверкой на нормальность по критерию Шапиро – Уилка. В выборках с сильным и средним уровнем загрязнения радионуклидами выявлены отклонения от симметричности по признакам "площадь листа и конечной доли", "периметр листа" (участок 1) и "длина, ширина листа", "длина годичного побега" и "количество листьев на побеге" (участок 2). Отмечено, что частотные распределения морфометрических параметров существенно различаются между участками с разным уровнем загрязнения. При переходе от участка 3 к участку 1 наблюдается смещение центров распределений признаков в сторону меньших значений для большинства морфометрических показателей, за исключением длины годичного побега. Наиболее асимметричны частотные распределения на участке с сильным уровнем радионуклидного загрязнения (рис. 2). В выборке со средним облучением отклонения выражены в основном положительной или отрицательной эксцессивностью. Следует отметить, что в сильнооблученной выборке 1 в распределении признаков "длина годичного побега" и "длина черешка"

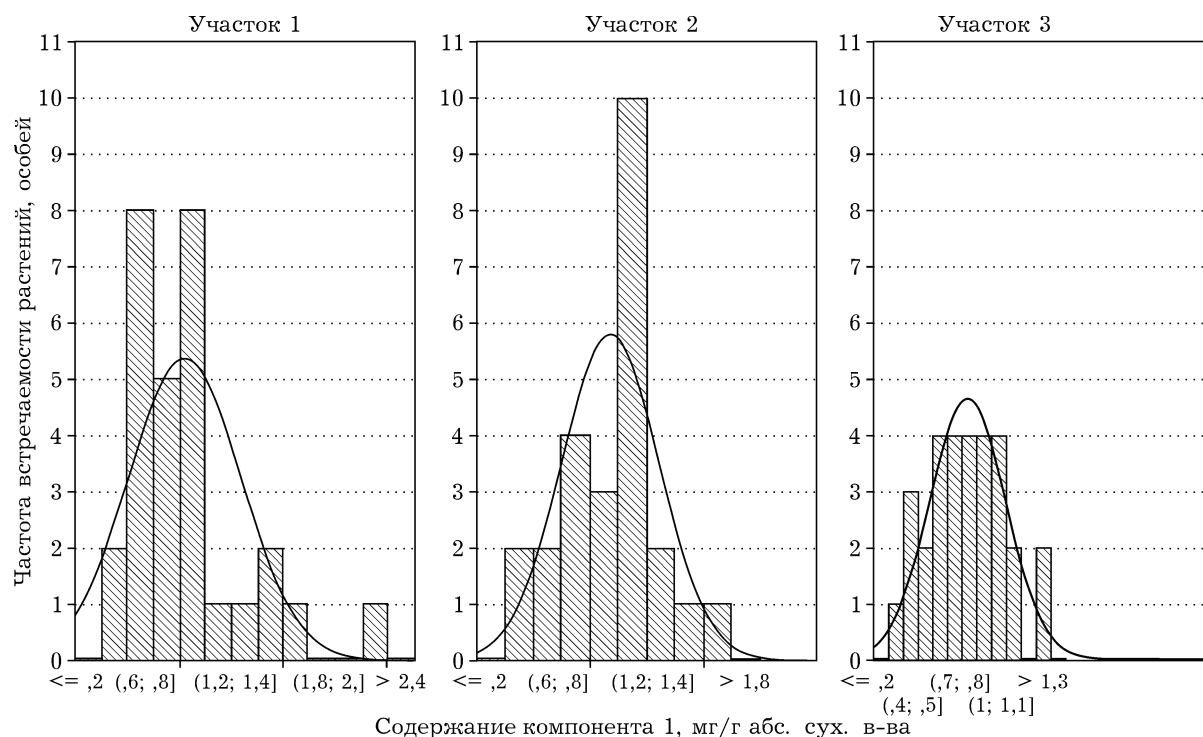
возникают две моды, что свидетельствует о дифференциации выборки и может классифицироваться как адаптивное явление.

По биохимическим признакам (табл. 5) отклонения от асимметричности и эксцессивности в наибольшей мере свойственны выборке 2. Вариационные кривые распределения растений по биохимическим признакам в выборках с высоким и средним радиационным фоном отличаются существенным увеличением значений коэффициента асимметрии, эксцессивностью и появлением двухвершинности по сравнению со слабым облучением (рис. 3). В выборке 2 отмечается появление двух мод в распределении содержания всех индивидуальных флавоноидных компонентов, общего содержания флавоноидов и суммы агликонов, что свидетельствует о дифференциации выборки и выделении групп растений с разной ответной реакцией на облучение, с большей или меньшей интенсивностью восстановительных процессов. Аналогичная зависимость проявляется у разных объектов и при самом широком спектре действующих факторов [21–23].

Для разделения объектов, подвергшихся разной степени облучения, использован дис-

Распределение биохимических показателей в образцах *Pentaphylloides fruticosus* из разных участков ВУРСа

Признак	A_s			E_x		
	1	2	3	1	2	3
Компонент 1	<u>1,60</u>	0,08	0,18	<u>3,32</u>	0,04	-0,36
» 2	<u>1,59</u>	<u>2,06</u>	<u>1,52</u>	<u>3,19</u>	<u>5,57</u>	<u>3,46</u>
Гиперозид	<u>2,06</u>	<u>3,17</u>	<u>1,22</u>	<u>5,21</u>	<u>11,30</u>	0,71
Изокверцитрин	0,20	<u>0,78</u>	-0,09	-0,78	0,69	-0,58
Компонент 5	<u>4,48</u>	0,44	<u>1,18</u>	<u>22,27</u>	-1,04	<u>2,32</u>
» 6	0,60	<u>1,63</u>	0,52	-0,76	<u>5,02</u>	0,10
» 7	0,14	<u>1,69</u>	0,04	<u>-1,24</u>	<u>3,33</u>	-0,64
» 8	0,52	0,06	0,23	-0,47	-0,73	-0,67
» 9	0,63	<u>1,99</u>	<u>0,80</u>	-0,47	<u>5,16</u>	0,42
Кверцитрин	<u>1,64</u>	<u>1,19</u>	<u>0,97</u>	<u>3,19</u>	<u>1,72</u>	<u>1,66</u>
Астрагалин	<u>1,13</u>	<u>0,81</u>	-0,05	<u>1,68</u>	0,29	-0,98
Компонент 12	0,51	<u>4,70</u>	0,67	-0,57	<u>22,86</u>	-0,08
Кверцетин	<u>2,20</u>	<u>1,09</u>	<u>1,62</u>	<u>6,05</u>	<u>0,84</u>	<u>4,06</u>
Кемпферол	0,39	<u>1,26</u>	<u>0,73</u>	-0,19	0,22	-0,31
Общая сумма флавоноидов	0,29	<u>1,10</u>	-0,06	<u>-1,17</u>	<u>2,11</u>	<u>-1,11</u>
В том числе:						
сумма флавонолов	0,27	0,69	0	-0,71	0,63	-0,50
сумма агликонов	<u>0,94</u>	<u>1,16</u>	<u>0,83</u>	<u>1,77</u>	0,14	0,56
Гликозиды кверцетина	0,33	<u>0,72</u>	-0,02	-0,61	0,64	-0,56
» кемпферола	<u>0,72</u>	<u>0,89</u>	<u>0,75</u>	0,00	0,31	-0,57
Сумма гликозидов	0,28	0,70	-0,01	-0,70	0,74	-0,52

Рис. 3. Вариационные кривые распределения растений *P. fruticosus* из разных участков Восточно-Уральского радиационного следа (ВУРС) по признаку "содержание компонента 1"

криминантный анализ методом опорных векторов (Support Vector Machine) [20, 24]. На сегодняшний день он является одним из наиболее мощных методов, используемых для разделения двух совокупностей по комплексу численных признаков. Кроме того, в отличие от классических методов дискриминантного анализа в методе опорных векторов не делается никаких предположений о законе распределения исходных совокупностей, что позволяет корректно разделять выборки с неизвестными законами распределения изучаемых характеристик. Метод опорных векторов использовался в наиболее простом линейном варианте. Даже в линейном варианте выявлено, что по совокупности морфометрических и биохимических параметров выборки с разной степенью облучения существенно различаются. На рис. 4 показано разделение выборок в терминах линейных дискриминантных функций. Прекрасно видно, что объекты, принадлежащие группам с разной степенью облучения, разделены широкими пустыми полосами. Следовательно, в зависимости от уровня облучения выборки различаются по комплексу биохимических и морфометрических показателей. Для трех выборок можно построить три дискриминантные функции, попарно разделяющие выборки. Значением j -й дискриминантной функции для каждого i -го объекта в выборке является сумма произведений всех характеристик этого объекта на соответствующий коэффициент дискриминантной функции

$$f_{i,j} = \sum_k X_{i,k} u_{j,k}, \text{ где } X_{i,k} - \text{измеренное значение } k\text{-й характеристики в } i\text{-м объекте, } u_{j,k} - \text{коэффициент } j\text{-й дискриминантной функции для } k\text{-й характеристики. Таким образом, по комплексу этих признаков возможно определить принадлежность каждой особи к определенной выборке.}$$

Однако остается неясным вопрос, какова изменчивость морфологических и биохимических признаков *P. fruticosa*, выращенных без радиационного воздействия. Для этого полученные данные сравнили с собственными результатами по внутривидовой изменчивости морфологических и биохимических признаков *P. fruticosa*, выращенных на экспериментальном участке в Центральном си-

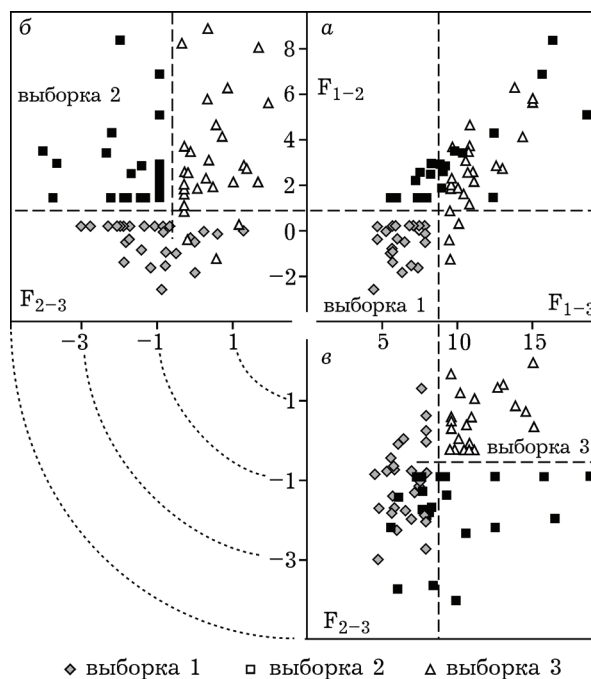


Рис. 4. Разделение выборок с разным уровнем облучения методом опорных векторов. Пунктирная линия соответствует гиперплоскости (классификатору), построенному так, чтобы максимизировать расстояние между множествами (а – выделена выборка 1, б – выборка 2, в – выборка 3). По осям отложены дискриминантные функции, разделяющие выборки 1 и 2 (F_{1-2}), 1 и 3 (F_{1-3}) и 2 и 3 (F_{2-3}). Дуги соединяют одинаковые значения дискриминантной функции F_{2-3} , использованной на рисунках б и в

бирском ботаническом саду СО РАН (ЦСБС СО РАН) в г. Новосибирске [25]. При этом следует отметить, что саженцы были высажены одновременно на ВУРСе и в ЦСБС СО РАН в 2004 г., принадлежали к одной партии, а образцы собраны в одну фазу – бутонизации. Анализ морфометрических показателей растений с третьего участка ВУРСа и из ЦСБС не выявил статистически значимых различий по признакам “площадь листа”, “площадь конечной доли”, “периметр конечной доли” и “длина черешка” ($U_{эмп} = 351 - 444 > U_{крит} = 317$ $n = 30$ при $p \leq 0,05$). При этом отмечено, что в выборке из ЦСБС длина годовичного побега возросла в 2,5 раза, длина листа и конечной доли – в 1,8 и 1,2 раза соответственно, ширина листа и конечной доли снизилась ~ на 10 %.

Вариабельность морфометрических параметров в выборке из ЦСБС ниже в 1,2–5,1 раза по сравнению со слабооблученной

выборкой 3 из ВУРСа, за исключением показателя «число листьев на побеге», который не изменился ($CV = 15\%$). Частотные распределения морфометрических параметров между этими участками существенно не различаются.

Содержание флавоноидов (в сумме и по группам) в листьях пятилистника кустарникового из ЦСБС снизилось в 1,5–2 раза по сравнению с выборкой 3, за исключением содержания гликозидов кемпферола, которое возросло в 2,9 раза. Изменчивость флавоноидных показателей (в сумме, по группам и индивидуальным компонентам) также значительно ниже на участке ЦСБС.

Повышение вариабельности морфометрических и биохимических показателей в сочетании со снижением морфометрических параметров и возрастанием содержания флавоноидов в листьях *P. fruticosa* в условиях радиационного воздействия по сравнению с фоновыми может свидетельствовать об адаптационных изменениях в растении, индуцированных облучением, что находит подтверждение в литературных данных [26, 27].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования на примере *Pentaphylloides fruticosa*, выращенного в градиенте загрязнения радионуклидами ^{90}Sr и ^{137}Cs , установлено, что радиационное воздействие вызвало статистически значимое уменьшение поверхности листа и конечной доли, их длины и ширины, прироста годичного побега и длины черешка листа у растений с наиболее облученного участка (МЭД – 3,10 мкЗв/ч) по сравнению с двумя менее загрязненными. Общее содержание флавоноидов в листьях растений с ростом уровня облучения не изменяется, при этом сумма флавонолов, агликонов, гликозидов и гликозидов кверцетина ниже на 20–23 % в листьях растений, произрастающих на среднеоблученном участке по сравнению с сильно- и слабооблученными.

Несмотря на статистически незначимые различия по средним значениям между отдельными морфометрическими показателями и содержанию флавоноидов (в сумме, по группам и индивидуальным компонентам), с помощью метода опорных векторов показано, что в зависимости от уровня облучения выборки

различаются по совокупности морфометрических показателей и содержанию флавоноидов. Каждой особи соответствует определенный комплекс морфометрических и биохимических параметров, определяющий принадлежность к одной из исследованных выборок.

Отмечено также, что вариабельность морфометрических показателей и содержания флавоноидов (в сумме и по группам) изменяется не линейно, при этом во всех вариантах значения коэффициента вариации ниже в выборке с наибольшим радиационным фоном. Изменчивость большинства индивидуальных флавоноидных компонентов, напротив, с ростом облучения увеличивается. Вариационные кривые распределения морфологических и биохимических признаков из выборок с более высоким радиационным фоном отличаются асимметричностью, эксцессивностью, смещенными модами и появлением бимодальности, что свидетельствует об адаптационных процессах, индуцированных облучением.

ЛИТЕРАТУРА

1. Запрометов М. Н. Фенольные соединения. М.: Наука, 1993. 272 с.
2. Laitinen M.-L., Julkunen-Tiitto R., Rousi M. Variation in phenolic compounds within a Birch (*Betula pendula*) population // J. of Chemical Ecology. 2000. Vol. 26, N 7. P. 1609–1622.
3. Полякова Л. В. Изменчивость содержания флавонолов и белка в природной популяции люцерны желтой // Биол. науки. 1990. № 10. С. 123–132.
4. Минаева В. Г. Флавоноиды в онтогенезе растений и их практическое использование. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1978. 255 с.
5. Судачкова Н. Е., Шеин И. В., Романова Л. И., Милютин И. Л. и др. Биохимические индикаторы стрессового состояния древесных растений. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1997. 176 с.
6. Израэль Ю. А., Кунина И. М., Семенов С. М. Экологические эффекты УФ-радиации в области Б на растительность суши // Труды совещ. “Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем”. СПб., 1986. Т. XVI. С. 9–23.
7. Триль В. М., Волхонская Т. А., Шкель Н. М. Особенности накопления БАВ в курильском чае кустарникового в природе и культуре // Тез. докл. “Особенности акклиматизации многолетних интродуцентов, накапливающих биологически активные вещества”. Краснодар: КГАУ, 1995. С. 239–242.
8. Храмова Е. П. Динамика содержания флавонолов в надземных органах *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz различных экотипов, выращиваемых в Новосибирске // Раст. ресурсы. 1999. Т. 35, вып. 4. С. 31–38.
9. Николаева И. Г., Хобракова В. Б., Арьяева М. М. Пятилистник кустарниковый (Курильский чай кустарниковый). Улан-Удэ, 2003. 110 с.

10. Bate-Smith E. C. Chromatography and taxonomy in the *Rosaceae* with special reference to *Potentilla* and *Prunus* // J. Linnean Soc. Botany. London. 1961. Vol. 58, N 370. P. 39–54.
11. Федосеева Г. М. Фенольные соединения *Potentilla fruticosa* // Химия природ. соединений. 1979. № 4. С. 575–576.
12. Растительные ресурсы СССР. Л.: Наука. Ленингр. отделение, 1987. 326 с.
13. Ганенко Т. В., Луцкий В. И., Ларин М. Ф., Верещагин А. Л., Семенов А. А. Химический состав *Potentilla fruticosa* 1. Флавоноиды // Химия природ. соединений. 1988. № 3. С. 451.
14. Ганенко Т. В., Верещагин А. Л., Семенов А. А. Химический состав *Potentilla fruticosa* 3. Флавоноиды и свободные стеринны // Там же. 1991. № 2. С. 285.
15. Шкель Н. М., Храмова Е. П., Кузаков Е. В., Волхонская Т. А., Триль В. М. Фенольные соединения *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz // Химия в интересах устойчивого развития. 1997. Т. 5, № 1. С. 123–127.
16. Трубина Л. К. Стереомодели в изучении биологических объектов. Новосибирск, 2006. 136 с.
17. Beek T. A. Chemical analysis of *Gingo biloba* leaves and extracts // J. of Chromatography A. 2002. N 967. P. 21–35.
18. Храмова Е. П., Комаревцева Е. К. Изменчивость флавоноидного состава листьев *Potentilla fruticosa* (Rosaceae) разных возрастных состояний в условиях Горного Алтая // Раст. ресурсы. 2008. Вып. 3. С. 96–102.
19. Бакуров А. С., Григорьева Т. А., Першина Л. И. Радиохимические методы при проведении радиационного мониторинга окружающей среды // Вопросы радиационной безопасности. 2004. № 4. С. 62–65.
20. Вапник В. Н., Червоненкис А. Я. Теория распознавания образов (статистические проблемы обучения). М.: Наука, 1974. 416 с.
21. Позолотина В. Н. Адаптационные процессы у растений // Экология. 1996. № 2. С. 111–116.
22. Позолотина В. Н. Отдаленные последствия действия радиации на растения. Екатеринбург, 2003. 244 с.
23. Четверикова Е. П., Яшина С. Г., Шабаева Э. В., Егорова Е. Ф., Яшина А. В. Влияние криоконсервации и инбридинга на изменчивость морфологических признаков на примере ослинника двулетнего (*Oenothera biennis* L.) // Биофизика. 2005. Т. 50, № 3. С. 559–566.
24. Воронцов К. В. Лекции по методу опорных векторов. URL: <http://www.ccas.ru/voron/download/SVM.pdf>
25. Храмова Е. П., Высочина Г. И. Изменчивость морфологических параметров и содержания флавоноидов в *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz (Rosaceae) в условиях культуры // Химия растительного сырья. 2010. № 3. С. 135–141.
26. Журавская А. Н., Прокопьев И. А., Воронов И. В. Изучение адаптивных возможностей ольхи кустарниковой, произрастающей в зоне повышенного естественного радиационного фона // Наука и образование. 2009. № 2. С. 69–73.
27. Журавская А. Н., Воронов И. В., Прокопьев И. А. Влияние вариабельности физиолого-биохимических характеристик на радиочувствительность ольхи кустарниковой (*Duschekia fruticosa* (Rupr) Pouzar), произрастающей в условиях повышенного естественного радиационного фона // Наука и образование. 2006. № 2. С. 34–39.
28. Животовский Л. А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1990. 271 с.

Effect of the Radiation Factor on Flavonoid Content and Morphometric Indices for *Pentaphylloides fruticosa* as Example

E. P. KHRAMOVA¹, O. V. TARASOV², E. I. KRYLOVA², A. V. LAVRECHUK³

¹ Central Siberian Botanical Garden SB RAS
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101
E-mail: khramova@ngs.ru

² FGUP Mayak Industrial Association
456780, Ozersk, Chelyabinsk Region, Ermolaev str., 18

³ V. S. Sobolev Institute of Geology and Mineralogy SB RAS
630090, Novosibirsk, Acad. Koptyug ave., 3

Attempt is made to estimate the features of the influence of chronic action of radiation on the variability of biochemical and morphometric parameters of *Pentaphylloides fruticosa* grown under the gradient of pollution with radionuclides ⁹⁰Sr and ¹³⁷Cs, and to demonstrate, using the coefficient of variability (CV), analysis of variation curves of distribution and discriminant analysis, that the samples differ depending on the level of radiation.

Key words: *Pentaphylloides fruticosa*, flavonoids, morphometric parameters, radiation factor, variability, method of reference vectors.