

## ДЕГИДРИНЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ И ЕЛИ СИБИРСКОЙ В СЕЗОННОМ ЦИКЛЕ

Н.Е. Коротаева, М.В. Иванова, Г.Г. Суворова, Г.Б. Боровский

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, [knev73@yandex.ru](mailto:knev73@yandex.ru)

**Аннотация.** Сопоставляли количество и сезонную динамику дегидринов (ДГ) хвои сосны обыкновенной (ксерофит) и ели сибирской (мезофит). В разные периоды года хвоя сосны содержала на 1-2 ДГ больше. С наступлением холодного сезона происходил рост содержания ДГ с различными молекулярными массами, но эти белки не были «уникальными» для каждого вида. Слабые различия в полиморфизме ДГ говорят в пользу того, что для сосны и ели приспособленность к определенным условиям среды не определяется разнообразием ДГ хвои.

**Ключевые слова:** *Pinus sylvestris L.*, *Picea obovata Ledeb.*, хвоя, дегидрины, сезонная холодовая акклимация

**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-435-439

Изучение факторов адаптации к неблагоприятным условиям среды является актуальной задачей физиологии растений. Белки-дегидрины (ДГ) известны как факторы сезонной холодовой акклимации, их накопление способствует приобретению устойчивости к стрессам, сопряженным с потерей влаги [Welling, 2006]. ДГ хвойных деревьев остаются слабо изученными, хотя вечнозеленые таежные растения Сибири произрастают в суровых условиях, хорошо адаптированы к смене сезонов и могут быть удачным объектом для изучения ДГ. Различные виды хвойных деревьев отличаются по своим экологическим характеристикам, пределам и оптимумам реализации физиологических функций и границам адаптивного потенциала. Так, сосна требовательна к температуре почвы и светолюбива, тогда как ель теневынослива, требовательна к влажности и богатству почвы, но не требовательна к теплу [Суворова, 2009]. В хвое сосны более выражены черты ксероморфности, чем в хвое ели [Иванова, 2014]. Логично было бы предположить, что растения, принадлежащие к различным экологическим группам, могут различаться по сезонной динамике и составу ДГ. Наличие или отсутствие таких различий могло бы позволить сделать вывод о месте ДГ среди адаптаций, позволяющих представителям вида занимать определенные экологические ниши. Целью данной работы было сопоставление состава ДГ хвои ксерофита (сосны обыкновенной) и мезофита (ели сибирской) в сезонном цикле.

Климатические условия в период исследования были благоприятными для вегетации хвойных: уровень солнечной радиации незначительно отличался от среднесуточных значений; среднемесячная температура воздуха была выше среднесуточных значений; среднемесячная температура почвы на глубине 20 см была ниже среднесуточных значений из-за высокого уровня влажности на протяжении всего вегетационного периода. В апреле, мае и июле общее количество осадков значительно превышало среднесуточные значения этого периода и имело оптимальный уровень в другие месяцы. Для работы использовали хвою второго года сосны обыкновенной и ели сибирской, произрастающих на опытном участке института (возрастом 30 лет). Общий белок, выделенный из хвои, использовали для электрофоретического фракционирования в ПААГ с SDS в системе Mini-Protean (Bio-Rad) с последующим Вестерн-блотом. Содержание ДГ определяли с помощью программы Gel analysis после инкубирования с первичными (Agrisera) и вторичными антителами, конъюгированными со щелочной фосфатазой (Sigma).

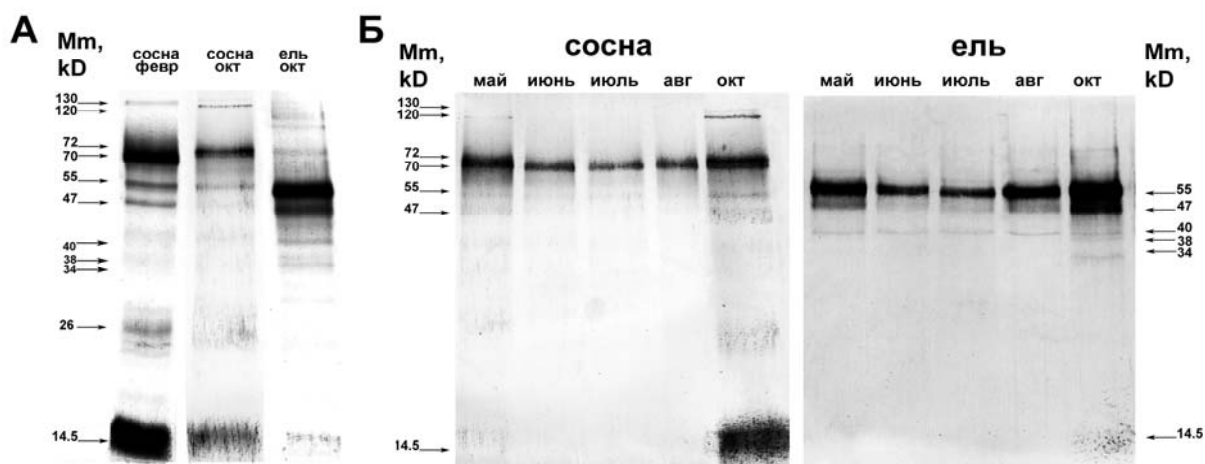
В хвое сосны за период исследования было обнаружено восемь ДГ с массами 130, 120, 72, 70, 55, 47, 26 и 14,5 кД, из них содержание белков с массами 120, 72 и 14,5 кД преобладало в пробе по сравнению с другими ДГ (Рисунок, А). В хвое ели были обнаружены ДГ с массами 55, 47, 40, 38, 34 и 14,5 кД (Рисунок, Б). Из них наибольшее содержание отмечалось для белков с массами 55 и 47 кД. ДГ с массами 72, 55, 47 и 14,5 кД были обнаружены в хвое обоих деревьев, остальные белки оказались «уникальными» для каждого вида. В феврале содержание ДГ в хвое сосны было повышено по сравнению с содержанием в октябре.

Содержание ДГ в хвое сосны изменялось по мере изменения сезона года (рисунок, Б). Наибольшее содержание ДГ отмечалось в мае и октябре. При этом ДГ с массами 72 и 70 кД присутствовали в хвое постоянно, остальные белки обнаруживались только в период смены сезонов года (май и октябрь). Эти результаты совпадают с нашими прежними данными [Korotaeva, 2012], однако, массы белков немного отличаются. Мы связываем эти различия, во-первых, с погрешностями определения молекулярной массы белка по пробегу, во-вторых, с использованием в данной работе других антител против ДГ (Agrisera). Содержание ДГ ели также изменялось в зависимости от этапа вегетационного периода: белки с массами 55 и 47 кД присутствовали в хвое в период наблюдений постоянно, тогда как остальные – только в мае-июне и октябре. Белки с массами 53, 35 и 33 кД, похожими на обнаруженные нами ДГ 55, 38 и 34 кД, были ранее обнаружены в работе Kjellsen с соавторами [2013]. Повышенное содержание ДГ в хвое сосны и ели весной и осенью объясняется холодной акклимацией и связью ДГ с ней. Необходимость накопления dhN может быть обусловлена значительной дегидратацией внутриклеточной среды в период подготовки к зиме и в зимний период, связанной с необходимостью избежать образования внутриклеточного льда [Welling, 2006]. При этом ДГ препятствуют слипанию белков обезвоженных клеток, утративших гидратную оболочку [Cuevas-Velazquez, 2014] и способны связывать активные формы кислорода [Sun, 2010], образующиеся в хвое при охлаждении на свету [Kamińska-Rożek, 2005]. Возможно, накопление отдельных ДГ (120 кД весной и 48 кД осенью) обусловлено необходимостью связывать повышенное количество свободных радикалов в клетках хвои в эти периоды.

У сосны нами было обнаружено восемь ДГ, в хвое ели – шесть. В октябре у сосны интенсивно накапливались три ДГ 120, 72 и 14,5 кД, тогда как у ели – два белка 55 и 47 кД. Возможно, большее разнообразие ДГ в хвое сосны связано с ее большей ксерофитностью. Известно, что накопление ДГ тесно связано с приобретением засухоустойчивости [Cuevas-Velazquez, 2014]. Их функции при этом заключаются в связывании воды и защите белков от агрегации при обезвоживании внутриклеточной среды. Однако различия в разнообразии ДГ хвои у сосны и ели невелики. Таким образом, для древесного растения, имеющего значительные ресурсы для переживания неблагоприятных периодов, вероятно, роль ДГ для формирования способности к переживанию недостатка влаги и/или сезонной холодной акклимации не столь велика, как может быть для травянистых растений. В частности, для хвои важную роль могут играть такие факторы, как толщина клеточных стенок, объем мезофилла, соотношение количества мезофилла и защитных и проводящих структурных элементов. С другой стороны, большое разнообразие ДГ у ели может объяснять ее нетребовательность к теплу.

Примечательно, что и у ели, и у сосны обнаружены ДГ, которые присутствуют в хвое постоянно, независимо от смены условий сезона года, хотя количество этих ДГ в летние месяцы все-таки немного меньше. У сосны это белки 70 и 72 кД, у ели – 55 кД (Рисунок, Б). Похожие результаты были получены для ДГ 69, 66, 64 кД из почек березы

плосколистной, произрастающей в Якутии [Пономарев, 2014]. Роль такого постоянного присутствия ДГ пока не ясна, хотя авторы ассоциируют его с ростом и развитием растений в летний период [Пономарев, 2014].



**Рисунок. Дегидрины хвои сосны обыкновенной и ели сибирской в октябре (А) и в период вегетации (Б). Молекулярные массы дегидринов приведены слева (А) и справа и слева от рисунка (Б).**

В хвое ели впервые показано на протеомном уровне накопление в холодное время года низкомолекулярного (нм) ДГ с массой 14,5 кД. Белок похожей массы был обнаружен ранее в хвое сосны [Korotaeva, 2012; Петров, 2011], березы плосколистной [Пономарев, 2012, 2013] и березы повислой [Татаринова, 2013]. Также он был выявлен в сосновой хвое в данной работе. Нм ДГ определялся у зимующих деревьев исключительно в холодные месяцы (февраль-март и октябрь), что говорит в пользу его тесной связи с сезонной холодовой акклимацией и того, что он позволяет адаптироваться клеткам хвои к условиям холода. Ряд фактов подтверждает такое предположение. Например, содержание нм ДГ в почках акклиматизированной к холоду березы плосколистной уменьшалось при искусственном раззакаливании [Пономарев, 2012]; накопление нм ДГ хвои сосны Мг 16 кД тесно коррелировало с приобретением морозоустойчивости [Chang, 2016]. Перечисленные факты убедительно говорят в пользу тесной связи между морозоустойчивостью и накоплением нм ДГ. Для генов нм ДГ *Picea glauca* было показано, что их экспрессия возрастала в ответ на дефицит влаги [Sena, 2017], таким образом, можно предположить, что необходимость в их появлении в хвое в период сезонной акклимации к холоду может быть обусловлена зимним обезвоживанием клеток.

Таким образом, при характеристике сезонного цикла ДГ хвои сосны и ели удалось обнаружить как общие черты (сезонная динамика, наличие мажорных и «конститутивных» ДГ), так и различия, связанные с разнообразием и количественным соотношением ДГ у мезофитной ели по сравнению с ксерофитной сосной. Нм ДГ 14,5 кД, который, по литературным данным, связан с развитием холодостойкости и обладает криопротекторными свойствами, обнаружен в хвое обоих деревьев и содержится в хвое сосны в октябре в большем количестве по сравнению с хвоей ели. Большее содержание некоторых ДГ в хвое сосны по сравнению с хвоей ели позволяет предположить, что накопление ДГ может быть одним из факторов, который делает ксерофитность благоприятствующей распространению вида в широких климатических пределах характеристикой. Кроме того, это подтверждает концепцию, согласно которой эволюция развития фотосинтезирующих органов у сосны пошла по пути наращивания

защитных и приспособительных реакций [Суворова, 2009]. С другой стороны, различия в разнообразии ДГ у хвой сосны и ели не были яркими. Вероятно, ДГ, по крайней мере, для древесного растения, не являются компонентом, определяющим занимаемую экологическую нишу, для этого важен комплекс физиологических приспособлений.

#### Литература

Иванова М.В., Суворова Г.Г. Структура и функция фотосинтетического аппарата хвойных в условиях юга Восточной Сибири. – Иркутск: Изд-во ин-та Географии СОРАН, 2014. – 102 с.

Петров К.А., Софронова В.Е., Бубякина В.В., Перк А.А., Татарина Т.Д., Пономарев А.Г., Чепалов В.А., Охлопкова Ж.М., Васильева И.В., Максимов Т.Х. Древесные растения Якутии и низкотемпературный стресс // Физиология растений. – 2011. – Т.58, № 6. – С. 866–874.

Пономарев А.Г., Татарина Т.Д., Перк А.А., Васильева И.В., Бубякина В.В. Особенности белков, ассоциированных с формированием морозоустойчивости у двух популяций *Betula platiphylla* Якутии // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 1 – С. 341–350.

Пономарев А.Г., Татарина Т.Д., Перк А.А., Васильева И.В., Бубякина В.В. Дегидрины, ассоциированные с формированием морозоустойчивости березы плосколистной // Физиология растений. – 2014. – Т. 61, № 1. – С. 114–120.

Суворова Г.Г. Фотосинтез хвойных деревьев в условиях Сибири. – Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2009. – 195 с.

Татарина Т.Д., Перк А.А., Бубякина В.В., Пономарев А.Г., Ветчинникова Л.В., Васильева И.В. Дегидрины в почках *Betula pendula* ROTH.: особенности сезонной динамики // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2013. – Т. 15, № 3. – С. 799–801.

Chang C.Y., Fréchette E., Unda F., Mansfield S.D., Ensminger I. Elevated temperature and CO<sub>2</sub> stimulate late-season photosynthesis but impair cold hardening in pine // Plant Physiol. – 2016. – V. 172, № 2. – P. 802–818.

Cuevas-Velazquez C.L., Rendón-Luna D.F., Covarrubias A.A. Dissecting the cryoprotection mechanisms for dehydrins // Frontiers in Plant Science. – 2014. – V. 5. – P. 1–6.

Kamińska-Rożek E., Pukacki P.M. Effect of freezing desiccation on cold hardiness, ROS, membrane lipid levels and antioxidant status in spruce seedlings // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. – 2005. – V. 74, No. 3. – P. 219–228.

Kjellsen T.D., Yakovlev I.A., Fossdal C.G., Strimbeck G.R. Dehydrin accumulation and extreme low-temperature tolerance in Siberian spruce (*Picea obovata*) // Tree Physiol. – 2013. – V. 33, No. 12. – P. 1354–1366.

Korotaeva N.E., Oskorbina M.V., Kopytova L.D., Suvorova G.G., Borovskii G.B., Voinikov V.K. Variations in the content of stress proteins in the needles of common pine (*Pinus sylvestris* L.) within an annual cycle // Journal of Forest Research. – 2012. – V. 17, No. 1. – P. 89–97.

Sena J.S., Giguère I., Rigault P., Bousquet J., Mackay J. Expansion of the dehydrin gene family in the *Pinaceae* is associated with considerable structural diversity and drought-responsive expression // Tree Physiology. – 2017. – V. 38, No. 3. – P. 1–15.

Sun X., Lin H.-H. Role of plant dehydrins in antioxidation mechanisms // Biologia. – 2010. – V. 65. – P. 755–759.

Welling A., Palva E.T. Molecular control of cold acclimation in trees // Physiologia Plantarum. – 2006. – V. 127. – P. 167–181.

## THE DEHYDRINES OF COMMON PINE AND SIBERIAN SPRUCE WITHIN AN ANNUAL CYCLE

N.E. Korotaeva, M.V. Ivanova, G.G. Suvorova, G.B. Borovskii

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, knev73@yandex.ru

**Abstract.** Dehydrins (Dhn) from common pine (xerophyte) and Siberian spruce (mesophyte) needles were compared. In different year periods pine contained 1-2 Dhn more than spruce. With the onset of the cold season there was an increase in the content of Dhn of different molecular masses, but these proteins were not "unique" for each species. Weak differences in the Dhn polymorphism speak in favor that for pine and spruce the fitness for certain environment is not determined by the variety of Dhn in the needles.

**Keywords:** *Pinus sylvestris* L., *Picea obovata* Ledeb., хвоя, дегидрины, сезонная холодовая акклимация