

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АОС – БИОХИМИЧЕСКИЙ ИНДИКАТОР СЦЕНАРИЯ КСИЛОГЕНЕЗА ПРИ РАЗНОМ СООТНОШЕНИИ ПОДВИЖНЫХ ФОРМ АЗОТА И ФОСФОРА В ПОЧВЕ

К.М. Никерова, Н.А. Галибина, Ю.Л. Мощенская, Л.Л. Новицкая, М.Н. Подгорная, И.Н. Софронова

Институт леса – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», Петрозаводск, Россия, knikerova@yandex.ru

Аннотация. Исследована активность ферментов АОС в разных по запасам азота и фосфора почвах у растений карельской березы. Показано, что почвенные условия оказывают воздействие на процессы ксилогенеза, способствуя образованию нормальной древесины у безузорчатых растений или усугублению процессов паренхиматизации у узорчатых растений. С увеличением запасов азота активность АОС у узорчатых растений снижается. Высокоузорчатые растения редко встречаются на почвах с высоким содержанием азота.

Ключевые слова: запасы азота и фосфора, ксилогенез, карельская береза, узорчатость, активность антиоксидантных ферментов

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-549-553

Существование древесных объектов, которые позволяют исследователям изучать формирование разных типов древесины – уникальное явление. Одним из таких объектов является береза повислая (*Betula pendula* Roth var. *pendula*), у которой формируется нормальная прямослойная древесина, и ее особая форма – карельская береза (*B. pendula* Roth var. *carelica* (Mercl.) Hämet-Ahti), древесина которой носит свилеватый характер и визуально характеризуется наличием узора в местах крупных скоплений паренхимных клеток [Коровин и др., 2003; Novitskaya, Kushnir, 2006].

Внешние визуальные отличия находят отражение в разнонаправленных стратегиях ферментов углеводного обмена и взаимосвязанных с ними цепью метаболических реакций ферментов антиоксидантной системы (АОС).

Существование прямослойной древесины описывается следующей метаболической схемой: сахараза расщепляется преимущественно сахарозосинтазным (SS) путем под контролем гена *SUS1* и сопровождается активным синтезом структурных компонентов клеточных стенок (целлюлозы) [Галибина и др., 2016б; Мощенская и др., 2017]. При образовании аномальной древесины наблюдается повышение активности апопластной инвертазы (ApInv) [Галибина и др., 2016б]. В результате повышения активности ApInv в клетке вместо УДФ-глюкозы, образующейся при расщеплении сахарозы SS, возрастает содержание свободных гексоз. Гексозы, посредством включения в пентозо-фосфатный путь и цикл Кребса [Донцов и др., 2006; Savidge et al., 1996; Couee et al., 2006; Wellen, Thompson, 2010; Borges et al., 2017], участвуют в синтезе активных форм кислорода (АФК) и фенольных соединений, приводя к повышению активности ферментов АОС [Галибина и др., 2013, 2016а; Никерова и др., 2016; Никерова, Галибина, 2017]. Глюкоза, являясь сигнальной молекулой, может инициировать активность ферментов АОС [Hu et al., 2012], а также непосредственно взаимодействовать с АФК, образуя субстраты пероксидазного окисления [Синькевич и др., 2009]. В результате происходит переключение путей утилизации сахарозы с синтеза целлюлозы (как при образовании нормальной древесины) на реакции вторичного метаболизма, что сопровождается повышением активности ферментов АОС, активность которых, кроме того, прямо пропорционально коррелирует с возрастанием степени узорчатости, что может служить основанием для

ее использования в качестве диагностического признака [Галибина и др., 2016a]. В предыдущих наших исследованиях было показано, что в тканях ксилемы у *B. pendula* var. *carelica* выше жесткость структуры клеточной стенки, по сравнению с *B. pendula* var. *pendula*, за счет увеличения доли компонентов фенольной природы, как в составе лигнина, так и в виде поперечных диферуловых мостиков [Галибина, Терехова, 2014].

Большое влияние на ксилогенез оказывают условия места произрастания дерева, а значит, методы лесовыращивания. Известно, что на процессы ксилогенеза влияют почвенные условия [Dünisch, Bauch, 1994], которые можно изменять путем внесения, прежде всего, различных доз азотных и фосфорных удобрений. Мы предполагаем, что познание различных механизмов регуляции ксилогенеза может позволить эффективно и целенаправленно управлять этим процессом не только с точки зрения увеличения выхода биомассы древесины, но и выращивания древесины с заданными свойствами.

Диапазон экологических условий, в которых произрастает карельская береза, довольно узок и определяется хорошим освещением, температурным режимом, способствующим интенсивному оттоку сахарозы из листьев, нормальным увлажнением [Новицкая, 2008]. В результате изучения мест естественного распространения карельской березы и анализа характеристик почв в пределах ее ареала Л.Л. Новицкой [2008] было высказано предположение, что карельская береза не распространяется как в области очень бедных (примитивных и горно-тундровых), так и относительно богатых почв (буроземов темноцветных).

При изучении безузорчатых и узорчатых растений карельской березы на Заонежской лесосеменной плантации в Медвежьегорском районе Республики Карелия мы обнаружили неоднородность условий в пределах подзолистых почв. Разные почвенные участки в пределах одной плантации отличались по запасам азота (N, кг/га), фосфора (P, кг/га) и отношению запасов (P/N) этих основных питательных элементов.

У исследуемых растений были определены активности SS (мкмоль сахарозы/мг белка), ArInv (мкмоль сахарозы/мг белка), супероксиддисмутазы (SOD) (усл. ед./мг белка), пероксидазы (POD) (мкмоль ТГ/мг), каталазы (CAT) (мкмоль H₂O₂/мг белка) и полифенолоксидазы (PPO) (усл. ед./мг белка). По почвенным условиям мы выделили 4 участка со следующими характеристиками: 1 – N73, P114, P/N 1.6; 2 – N76, P84, P/N 1.1; 3 – N81, P50, P/N 0.6; 4 – N123, P54, P/N 0.4. Статистическая обработка данных осуществлялась в среде Microsoft Excel. Эксперименты проводили в 10 биологических и 3 аналитических повторностях. На диаграммах приведены средние значения и их стандартные ошибки. Для нахождения корреляций использовали пакет программ для анализа данных PAST ($p \leq 0.05$ (*), $p \leq 0.01$ (**), $p \leq 0.001$ (***) и $p \leq 0.0001$ (****)).

В почвах Карелии доступный азот, в основном, представлен аммонийной формой, доступность которой обеспечивается эффективными микоризными процессами. Отметим, что при увеличении отношения P/N микоризные процессы угнетаются, что приводит к потреблению доступного азота в форме нитратов.

Результаты исследования показали, что у безузорчатых растений возрастание запасов N в почве положительно коррелирует с активностью SS, которая, в свою очередь, отрицательно коррелирует с POD и PPO. С возрастанием запасов P и увеличением P/N отношения возрастает активность CAT. Таким образом, предполагаем, что внесение дополнительных доз азота может способствовать приросту древесины у безузорчатых растений карельской березы, а внесение дополнительных доз фосфора, вероятно, может способствовать перестройке на путь синтеза лигнина (рис. 1).

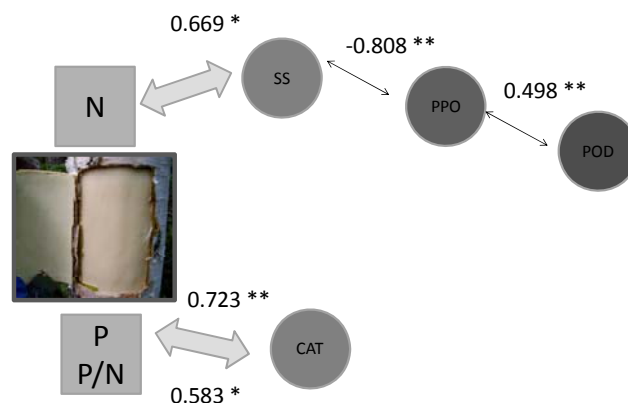


Рис. 1. Корреляционная схема запасов азота (N, кг/га), фосфора (P, кг/га) и P/N отношения и активности ферментов у безузорчатых растений. Над стрелками указаны коэффициенты корреляции и уровень значимости.

У узорчатых растений возрастание запасов N в почве отрицательно коррелировало с активностью SOD, которая, в свою очередь, была взаимосвязана с другими ферментами АОС (CAT, POD, PPO) через *ApInv*, которая, как отмечалось выше, запускает альтернативный путь расщепления сахарозы, который преобладает у узорчатых растений, образуя единый метаболический комплекс. Возрастание запасов P и увеличение P/N отношения у узорчатых растений отрицательно коррелировало с SS (рис. 2). Эти факты, вероятно, свидетельствуют о возможности усугубления процессов паренхиматизации при внесении дополнительных доз фосфора. Кроме того, у узорчатых растений карельской березы на участках с высоким уровнем запасов P был отмечен нами ранее высокий процент содержания паренхимы.

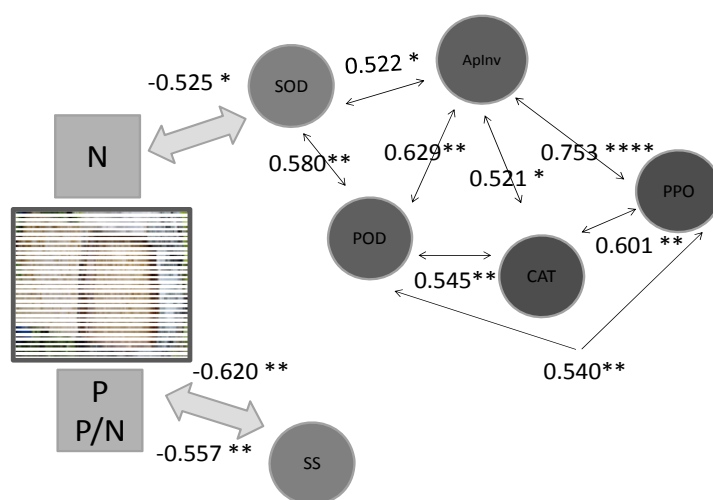


Рис. 2. Корреляционная схема запасов азота (N, кг/га), фосфора (P, кг/га) и P/N отношения с активности ферментов у узорчатых растений. Над стрелками указаны коэффициенты корреляции и уровень значимости.

Отметим, что при увеличении подвижного N в почве активность АОС у узорчатых растений имела тенденцию на снижение (рис. 3). Так, на участках с большими запасами N высокоузорчатые растения, у которых наблюдаются самые высокие значения активности ферментов АОС, как было показано нами ранее [Галибина и др., 2016а], встречались редко.

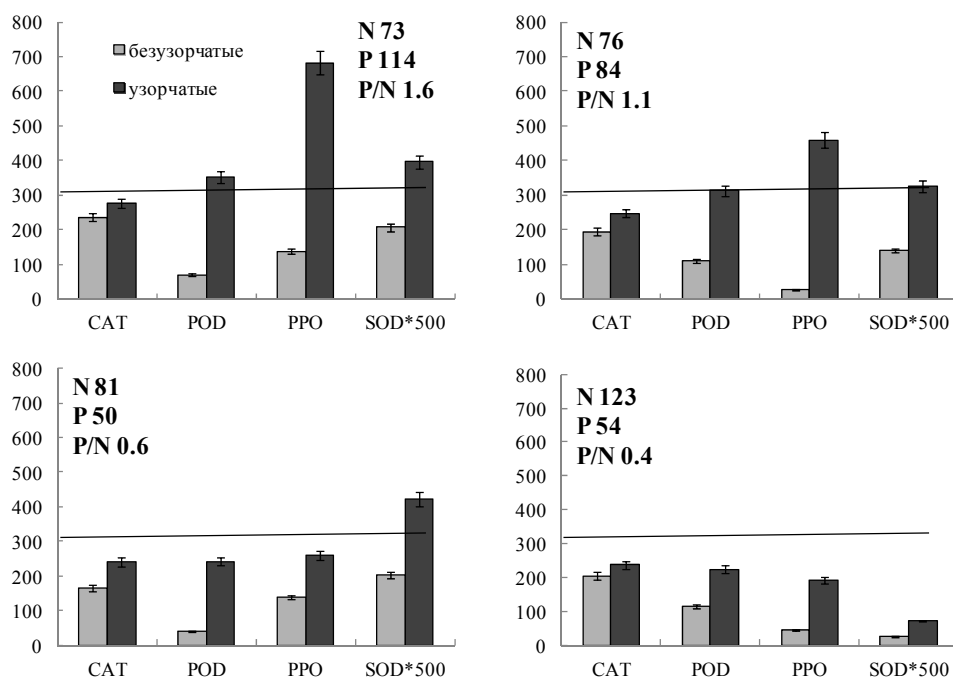


Рис. 3. Активность ферментов АОС у безузорчатых и узорчатых растений на разных по запасам азота (N, кг/га), фосфора (P, кг/га) и P/N отношения почвенных участках.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о разных метаболических стратегиях ферментов АОС у безузорчатых и узорчатых растений карельской березы. Интересным является факт количественного распределения активности изучаемых ферментов в разных почвенных условиях, который подтверждается возможностью присутствия растений карельской березы с разной степенью узорчатости.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН) и при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 16-04-01191 и 16-04-100639_p_a).

Литература

- Галибина Н.А., Целищева Ю.Л., Андреев В.П., Софронова И.Н., Никерова К.М. Активность пероксидазы в органах и тканях деревьев березы повислой // Ученые записки ПетрГУ. Серия Естественные и технические науки. – 2013. – Т. 133, № 4. – С. 7–13.
- Галибина Н.А., Теребова Е.Н. Физико-химические свойства клеточных стенок тканей ствола деревьев *Betula pendula* Roth // Ученые записки ПетрГУ. Серия Естественные и технические науки. – 2014. – № 4. – С. 19–25.
- Галибина Н.А., Мошкина Е.В., Никерова К.М., Мощенская Ю.Л., Знаменский С.Р. Активность пероксидазы как индикатор степени узорчатости древесины карельской березы // Лесоведение. – 2016а. – № 4. – С. 294–304.
- Галибина Н.А., Новицкая Л.Л., Никерова К.М. Избыток экзогенных нитратов подавляет формирование аномальной древесины у карельской березы // Онтогенез. – 2016б. – Т. 47, № 2. – С. 83–91.
- Донцов В.И., Крутько В.Н., Мрикаев Б.М., Уханов С.В. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении // Труды ИСА РАН. – 2006. – Т. 19. – С. 50–69.
- Коровин В.В., Новицкая Л.Л., Курносков Г.А. Структурные аномалии стебля древесных растений. – М.: Московский гос. университет леса, 2003. – 280 с.
- Мощенская Ю.Л., Галибина Н.А., Топчиева Л.В., Новицкая Л.Л. Экспрессия генов, кодирующих изоформы сахарозсинтазы, в ходе аномального ксилогенеза карельской березы // Физиология растений. – 2017. – Т. 64, № 3. – С. 301–310.

Никерова К.М., Галибина Н.А., Мошенская Ю.Л., Новицкая Л.Л., Подгорная М.Н., Софронова И.Н. Каталазная активность в листовом аппарате у сеянцев березы повислой разных форм (*Betula pendula* Roth): var. *pendula* и var. *carelica* (Mercklin) // Труды КарНЦ РАН. Серия Экспериментальная биология. – 2016. № 11. – С. 68–77.

Никерова К.М., Галибина Н.А. Влияние нитратного азота на пероксидазную активность в тканях *Betula pendula* Roth var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica* (Mercklin) // Сибирский лесной журнал. – 2017. – № 1. – С. 15–24.

Новицкая Л.Л. Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий. – Петрозаводск: Verso, 2008. – 144 с.

Синькевич М.С., Дерябин А.Н., Трунова Т.И. Особенности окислительного стресса у растений картофеля с измененным углеводным метаболизмом // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 2. – С. 186–192.

Borges C.V., Minatel I.O., Gomez-Gomez H.A., Lima G.P.P. Medicinal Plants: Influence of Environmental Factors on the Content of Secondary Metabolites / Medicinal Plants and Environmental Challenges. Eds. M. Ghorbanpour, A. Varma, Cham: Springer, 2017. – P. 259–278.

Couee I., Sulmon C., Gouesbet G., El Amrani A. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants // J. Exp. Bot. – 2006. – V. 57, No. 3. – P. 449–459.

Dünisch O., Bauch J. Influence of soil substrate and drought on wood formation of spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] under controlled conditions // Holzforschung. – 1994. – V. 48. – P. 447–457.

Hu M., Shi Z., Zhang Z., Zhang Y., Li H. Effects of exogenous glucose on seed germination and antioxidant capacity in wheat seedlings under salt stress // Plant Growth Regul. – 2012. – V. 68. – P. 177–188.

Novitskaya L.L., Kushnir F.V. The role of sucrose in regulation of trunk tissue development in *Betula pendula* Roth // J. Plant Growth Regul. – 2006. – V. 25, No. 1. – P. 18–29.

Savidge R.A. Xylogenesis, genetic and environmental regulation // JAWA J. – 1996. – V. 17, No. 3. – P. 269–310.

Wellen K.E., Thompson C.B. Cellular metabolic stress: considering how cells respond to nutrient excess // Mol. Cell. – 2010. – V. 40, No. 2. – P. 323–332.

CHANGE OF AOS ENZYME'S ACTIVITY – BIOCHEMICAL INDICATOR OF XYLOGENESIS SCENARIOS AT DIFFERENT RATIO OF MOBILE NITROGEN AND PHOSPHORUS FORMS IN THE SOIL

K.M. Nikerova, N.A. Galibina., Yu.L. Moshchenskaya, L.L. Novitskaya, M.N. Podgornaya, I.N. Sofronova

Forest Research Institute of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia, knikerova@yandex.ru

Abstract. We investigated the activity of AOS enzymes in soils with different nitrogen and phosphorus stocks in plants of Karelian birch. It was shown that soil conditions influenced the processes of xylogenesis, contributing to the formation of normal wood in non-figured plants or aggravation of parenchymatization processes in figured plants. The AOS activity of figured plants reduced with increasing nitrogen supply. Highly figured plants were rarely found on soils with high nitrogen content.

Keywords: nitrogen and phosphorus stocks, xylogenesis, Karelian birch, figured wood, antioxidant enzyme activity