

ОСОБЕННОСТИ СЕЗОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ДЕГИДРИНОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ *PICEA OBOVATA* LEDEB. В УСЛОВИЯХ КРИОЛИТОЗОНЫ

Т.Д. Татарина, А.А. Перк, А.Г. Пономарев, И.В. Васильева

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения Российской академии наук, Якутск, Россия, t.tatarinova@gmail.com

Аннотация. Впервые изучены состав и сезонные изменения дегидринов в побегах ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) в условиях криолитозоны Центральной Якутии. Показано что, большая часть мажорных дегидринов (57–17 кДа) представлены в годичном цикле *P. obovata* относительно равномерно, что свидетельствует об их конститутивных свойствах. Напротив, низкомолекулярные дегидрины (15 и 13 кДа) являются индуцибельными белками: они исчезают в летние месяцы и вновь появляются осенью в период холодовой адаптации.

Ключевые слова: криолитозона, *Picea obovata*, холодовая устойчивость, дегидрины, сезонные изменения

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-755-758

Доминирующими лесными породами тайги Восточной Сибири являются лиственницы Каяндера и Гмелина, как виды, менее требовательные к почвенным и климатическим условиям, включая близкое залегание многолетнемерзлых грунтов. Ель сибирская (*Picea obovata* Ledeb.), напротив, имеет довольно узкий экологический ареал, произрастая в экстразональных лесорастительных условиях на увлажненных плодородных почвах [Поздняков, 1986]. Вместе с тем она имеет существенное хозяйственное значение, связанное с высоким качеством древесины, является источником сырья для целлюлозно-бумажной промышленности, а также выполняет важную природоохранную функцию как кормовая база и местообитание животных.

Данный вид – наиболее морозоустойчивый и зимостойкий из всех представителей рода *Picea* – переносит экстремально низкие температуры минус 40-60 °С в Центральной Якутии. У ели сибирской полностью акклиматизированные хвоя, почки и ткани камбия могут пережить погружение в жидкий азот при температуре –196 °С [Strimbeck et al., 2007]. Биохимические изменения, происходящие при акклиматизации к холоду в широком ряду разных видов растений, включают десатурацию жирных кислот и изменения состава липидов, накопление сахарозы и олигосахаридов, пролина, глицин-бетаина и синтез белков-дегидринов с вероятными криопротекторными функциями [Li et al., 2004]. Дегидрины представляют собой семейство белков LEA (Late Embryogenesis Abundant), которые ассоциированы со стрессовыми реакциями к холоду и акклиматизацией, а также другими типами стресса на всех уровнях [Welling, Palva, 2006]. Различные сочетания консервативного К-сегмента и некоторых переменных сегментов определяют их функциональные свойства, важнейшими из которых являются криопротекторная и антиоксидантная функции [Welling, Palva, 2006; Kosova et al., 2010]. Вместе с тем физиолого-биохимические механизмы устойчивости древесных растений к умеренно низким и экстремально низким температурам, в которых важную роль играют белки-дегидрины, изучены недостаточно.

Целью данной работы является исследование сезонных изменений дегидринов в побегах ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.), произрастающей в условиях криолитозоны Центральной Якутии. Объектом исследований служили одно-двухлетние побеги ели. Сбор образцов осуществляли в 2009-2018 гг. на лесных участках в 7 км от г. Якутска (62° с.ш., 130° в.д.). Для выделения суммарных белков побеги ели (1,5-2,0 г) измельчали в ступке в жидком азоте в присутствии нерастворимого

поливинилпирролидона («Serva», Германия) и экстракционного буфера [Korotaeva et al., 2012]. Гомогенат центрифугировали при 50000 g в течение 40 мин. К супернатанту, профильтрованному через капроновую ткань, добавляли поливинилпирролидон (2,5%) и центрифугировали в том же режиме. Белки осаждали пятью объемами ацетона при –20 °С. Содержание белка определяли методом Лоури с помощью набора («Bio-Rad», США) [Lowry et al., 1951]. Электрофорез белков проводили в 13,5% ПААГ с ДДС с использованием маркеров молекулярной массы («Fermentas», Литва) и последующим окрашиванием белков Кумасси R-250 [Laemmli, 1970]. На треки наносили равное количество белка (10 мкг). Белки из ПААГ переносили на ПВДФ (поливинилиденфторид) мембрану («Bio-Rad», США). Идентификацию дегидринов выполняли с помощью поликлональных антител против их консервативного К-сегмента в разведении 1:500 («Agrisera», Швеция).

В побегах ели сибирской нами идентифицированы не менее девяти мажорных дегидринов (таблица). Большая часть из них, а именно дегидрины 57, 45, 37, 35, 29, 24, 17 кДа, в течение года сохраняют относительно постоянный уровень, что свидетельствует об их участии в основных метаболических процессах. С другой стороны, низкомолекулярные дегидрины 15 и 13 кДа, являются сезонно зависимыми белками. Они почти полностью исчезают в начале вегетации (май) и отсутствуют в летние месяцы, но синтезируются осенью в период акклимации растений. Такого рода сезонное поведение дегидринов может указывать на их индуцибельный характер, запускаемый процессами, вызванными уменьшением долготы дня и нарастанием холодового воздействия в период подготовки растений к зимнему покою.

Таблица.

Сезонные изменения содержания дегидринов* в побегах ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) в условиях Центральной Якутии

Месяцы / дегидрины, кДа	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XII
57	180	167	179	156	137	126	126	149	115	161	166
45	140	127	121	134	157	165	156	133	90	100	123
37	115	111	86	101	109	76	70	66	70	106	104
35	80	77	64	81	86	54	24	31	37	65	69
29	77	69	61	67	62	30	21	36	39	63	74
24	63	59	44	51	98	35	34	20	56	69	67
17	65	62	56	48	44	36	35	38	61	72	62
15	84	73	69	59	10	7	10	44	82	99	79
13	148	140	127	80	6	0*	4	85	172	175	136

*денситометрическая плотность (ДП, отн. ед.) 13 кДа дегидрина в июне принята за нулевой уровень

По данным литературы, возрастание уровня дегидринов, связанное с адаптацией к низким температурам, отмечалось у голосеменных видов растений, в том числе устойчивых к экстремальным температурам, таких как *Pinus sylvestris* [Kontunen-Soppela, Laine, 2001; Korotaeva et al., 2012; Татарина и др., 2017a], *Larix cajanderi* [Татарина и др., 2017b], *Picea glauca* [Liu et al., 2004], *Picea obovata* [Kjellsen et al., 2013]. Следует отметить, что только по базе данных генов белой ели (*Picea glauca*) были идентифицированы не менее 53 различных типов дегидринов [Rigault et al., 2011]. У некоторых родов хвойных растений как, например, лиственницы, ели и пихты, количество типов дегидринов значительно превосходит таковой сосны. Такое многообразие дегидринов, вероятно, вызвано специфическими особенностями

адаптации, приведшими к расхождению филогенетических ветвей (таксонов) [Sena et al., 2017].

Углубленное познание биохимических механизмов, отвечающих за предельную морозоустойчивость древесных растений, может привести к разработке новых методов повышения холодоустойчивости лесных культур, включая диагностические подходы, а также будет способствовать сохранению генетического разнообразия этих видов.

Обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания ИБПК СО РАН (регистрационный номер АААА-А17-117020110054-6).

Литература

- Поздняков Л. К. Мерзлотное лесоведение. – Новосибирск: Наука, 1986. – 192 с.
- Татаринова Т.Д., Перк А.А., Бубякина В.В., Васильева И.В., Пономарев А.Г., Максимов Т.Х. Стрессовые белки-дегидрины в хвое *Pinus sylvestris* L. в условиях экстремального климата Якутии // Доклады академии наук. – 2017а. – Т. 473, № 2. – С. 233–236.
- Татаринова Т.Д., Пономарев А.Г., Перк А.А., Васильева И.В., Бубякина В.В. Связь дегидринов с адаптацией *Larix cajanderi* к сверхнизким зимним температурам криолитозоны // Acta Naturae. – 2017б. – № Sp. – С. 85.
- 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. – P. 1354–1366.
- Kontunen-Soppela S., Laine K. Seasonal fluctuation of dehydrins is related to osmotic status in Scot spine needles // Trees Struct. Funct. – 2001. – V. 15. – P. 425–430.
- 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 // J. For. Res. – 2012. – V. 17. – P. 89–97.
- Kosova K., Prasil I.T., Vitamvas P. Role of dehydrins in plant stress response // Handbook of Plant and Crop Stress. – Tucson: CRC Press, 2010. – P. 239–285.
- Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – V. 227. – P. 680–685.
- Li C.Y., Junttila O., Palva E.T. Environmental regulation and physiological basis of freezing tolerance in woody plants // Acta Physiol Plant. – 2004. – V. 6. – P. 213–222.
- Liu J.J., Ekramoddoullah A.K.M., Taylor D., Piggott N., Lane S., Hawkins B. Characterization of Picg5 novel proteins associated with seasonal cold acclimation of white spruce (*Picea glauca*) // Trees Struct Funct. – 2004. – V. 18. – P. 649–657.
- Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.F. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193. – P. 265–275.
- Rigault P., Boyle B., Lepage P., Cooke J.E.K., Bousquet J., MacKay J.J. A white spruce gene catalog for conifer genome analyses // Plant Physiol. – 2011. – V. 157. – P. 14–28.
- 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. – P. 1–15. doi:10.1093/treephys/tpx125.
- Strimbeck G.R., Kjellsen T.D., Schaberg P.G., Murakami P.F. Cold in the common garden: comparative low-temperature tolerance of boreal and temperate conifer foliage // Trees: Structure and Function. – 2007. – V. 21. – P. 557–567.
- Welling A., Palva E.T. Molecular control of cold acclimation in trees // Physiol. Plant. – 2006. – V. 127. – P. 167–181.

**PECULIARITIES OF SEASONIC CHANGES OF DEHYDRINES
IN THE FORMATION OF THE STABILITY OF *PICEA OBOVATA* LEDEB.
IN CONDITIONS OF CRYOLITHIC ZONE**

T.D. Tatarinova, A.A. Perk, A.G. Ponomarev, I.V. Vasilieva

Institute for Biological Problems of Cryolithozone Siberian Branch of Russian
Academy of Sciences, Yakutsk, Russia, *t.tatarinova@gmail.com*

Abstract. For the first time, the composition and seasonal changes of dehydrins in shoots of Siberian spruce (*Picea obovata* Ledeb.) under conditions of the cryolithic zone of Central Yakutia were studied. It is shown that most of the major dehydrins (57–17 kDa) are represented *P. obovata* relatively evenly throughout the year, which indicates their constitutive properties. In contrast, low molecular weight dehydrins (15 and 13 kDa) are inducible proteins: they disappear in the summer months and reappear in the autumn in the period of cold adaptation.

Keywords: *cryolithic zone, Picea obovata, cold resistance, dehydrins, seasonal changes*