

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА В ХВОЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PINUS SYLVESTRIS* L.) В ПОСТПИРОГЕННЫЙ ПЕРИОД

И.Г. Гетте¹, Н.Е. Коротаева², И.В. Косов³, Г.Б. Боровский²

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия, getteirina@yandex.ru

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, knev73@yandex.ru

³Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

Аннотация. В работе приведены результаты по измерению полуколичественного содержания белков теплового шока (heat shock proteins, Hsp) хвои сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) как критерия в оценке общего физиологического статуса. Экспериментальные данные отражают содержание Hsp в ответ на прямое (через отклик деревьев на воздействие огня) и косвенное воздействие пожара (через отклик на послепожарную трансформацию условий среды).

Ключевые слова: лесные пожары, белки теплового шока, сосна обыкновенная, постпирогенный период

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-1047-1051

Одним из наиболее актуальных экологических факторов, которым регулярно подвергаются лесные биоценозы в условиях Сибири, являются пожары [Иванова и др., 2014]. Распределение лесных пожаров по территории Сибири неравномерно, в основном, они затрагивают районы с насаждениями лиственницы сибирской и сосны обыкновенной, которые характеризуются повышенной пожароопасностью. Именно на сосновые леса приходится до 60% от общего количества лесных пожаров, большинство из которых – низовые [Korovin, 1996]. Во время огневого воздействия деревья подвергаются интенсивному нагреву за счет конвекционного тепла. Подобного рода высокотемпературное воздействие можно отнести к стрессовому фактору с коротким интервалом действия высоких температур, но продолжительным периодом влияния изменённых условий среды, называемым «постпирогенный период». Ряд авторов отмечает наличие компенсационных эффектов в послепожарный период, как на морфологическом уровне, так и на физиолого-биохимическом [Фурьев, Фурьев, 2008; Цветков, 2011]. Однако остается открытым вопрос об особенностях восстановления метаболизма древостоя, а также о продолжительности сохранения акклимационных эффектов, имеющих важное практическое значение. Конвективный поток низового пожара оказывает непосредственное влияние на вегетативные органы растений, что впоследствии сказывается на состоянии организма в целом. Среди защитно-приспособительных механизмов растений к действию различных стрессовых факторов выделяют изменение экспрессии генов и рост синтеза белков теплового шока (heat shock proteins, Hsp) [Кулаева, 1997]. Таким образом, цель работы заключалась в определении содержания белков теплового шока в хвое сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), накапливающихся как во время низового пожара, так и в постпирогенный период.

Для проведения исследования было подобрано два участка с насаждениями сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) зеленомошно-разнотравной группы типов леса I и II классов возраста, расположенных в одном таксационном выделе в Красноярской

лесостепи в Емельяновском районе Красноярского края. На обоих участках проводилось экспериментальное выжигание методом отжига от одной стороны участка, имитирующего кромку низового пожара слабой силы [Курбатский, 1962]. На первом экспериментальном участке (ЭУ) контролируемое выжигание было проведено в летний период 2014 г., на втором экспериментальном участке – в вегетационный период 2017 года. Во время экспериментов фиксировались высота пламени, скорость продвижения кромки пожара, глубина прогорания лесных горючих материалов. Температура конвективного потока в кроне модельных деревьев фиксировалась автономными регистраторами температуры Eclerk («РЭЛСИБ», Россия) с разрешающей способностью в 1 с.

Для оценки первичной стрессовой реакции и в кратковременной динамике отбор хвои проводили перед выжиганием 2017 года (контроль), через 30 минут и спустя 2 и 5 суток. Для установления различия в начальном содержании белков, а также в темпах его синтеза для хвои, сформированной после контролируемого выжигания 2014 года, был применен прием повторного стрессирования побегов в термостате (1ч при 45 °С). В данном случае, для сравнения был подобран контрольный участок с аналогичными климатическими и эдафическими условиями, при этом древостой ранее не был затронут низовым пожаром.

Для оценки содержания стрессовых белков в хвое использован современный высокочувствительный аналитический метод выделения и полуколичественной оценки содержания белков теплового шока растений (Вестерн-блоттинг). Общий белок выделяли по ранее опубликованной методике [Korotaeva et al., 2012].

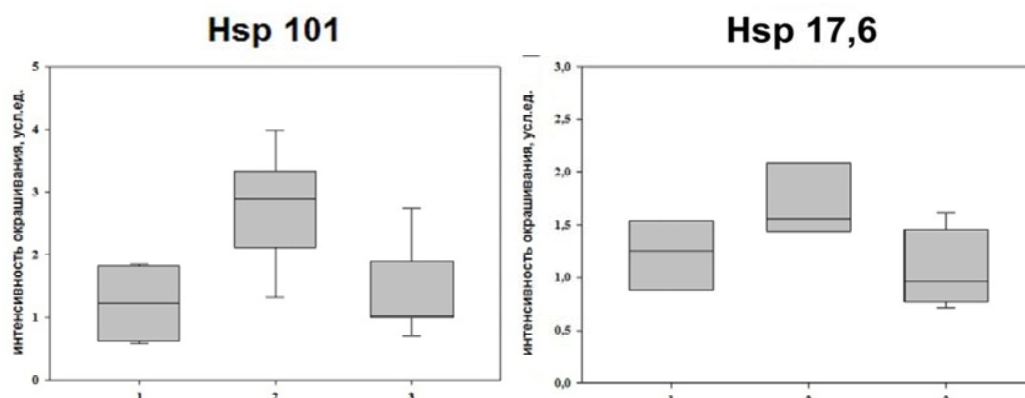


Рис. 1. Изменение содержания Hsp101 и Hsp 17,6 в хвое сосны обыкновенной сразу после проведения искусственного выжигания и в краткосрочной динамике. Представлен результат денситометрической оценки интенсивности окрашивания белковых пятен после экстракции общего белка, электрофореза в ПААГ и Вестерн Блот. 1 -пробы отбирались через 30 мин после выжигания; 2 - через 2 суток после выжигания; 3 - через 5 суток после выжигания. Интенсивность окрашивания каждого белка представлена в условных единицах относительно контроля, принятого за 1. Ме [25%; 75%], бары показывают минимальное и максимальное значения.

По данным, полученным с температурных датчиков, закрепленных на момент проведения экспериментов в кроне молодых деревьев, средние температуры составили около 46 ± 7 °С. Температуры выше 30 °С оказывали влияние в диапазоне от 5.5 до 15 минут, при этом максимальные значения могли варьировать от 48 °С до 80 °С. Именно это непродолжительное влияние высоких температур на крону деревьев, сопровождающееся обгоранием стволов, а также продолжительным тлением подстилки может запускать в растениях многочисленные структурные и функциональные изменения. Одним из проявлений защитных механизмов в фотосинтезирующих органах растений является накопление белков теплового шока. При этом реализация

функций высокомолекулярных Hsp (Mг 110-50 кДа) осуществляется с участием низкомолекулярных стрессовых белков (Mг 40-15 кДа) [Al-Whaibi, 2011]. Для наглядности, на рисунке 1 и 2 представлены данные по определению содержания Hsp 101 и Hsp 17,6.

На рис. 1 представлены данные, характеризующие краткосрочную динамику изменения содержания белков теплового шока в хвое в результате проведения контролируемого выжигания в вегетационный период 2017 года.

Спустя 30 минут после непродолжительного высокотемпературного воздействия, накопление стрессовых белков было довольно слабым по сравнению с контрольным уровнем. Такое слабое накопление может говорить либо о кратковременности воздействия, недостаточной для активации защитных механизмов на уровне белкового синтеза, либо о сильных барьерных свойствах наружных структур хвои [Загирова, 1999]. В пробах, отобранных через 2 суток, отмечено наибольшее содержание стрессовых белков, при этом содержание Hsp 101 выше по сравнению с пробами, отобранными через 30 мин и на 5 сутки. Содержание Hsp на 5 сутки существенно не отличалось от их содержания спустя 30 минут после выжигания (для Hsp 101) и от содержания в контроле (для Hsp 17,6). Сохранение относительного количества Hsp 101 на уровне выше контрольного на 5 сутки может говорить в пользу сохранения стрессирующего эффекта, либо продолжения восстановительных процессов, для которых наличие стрессового белка может быть необходимо.

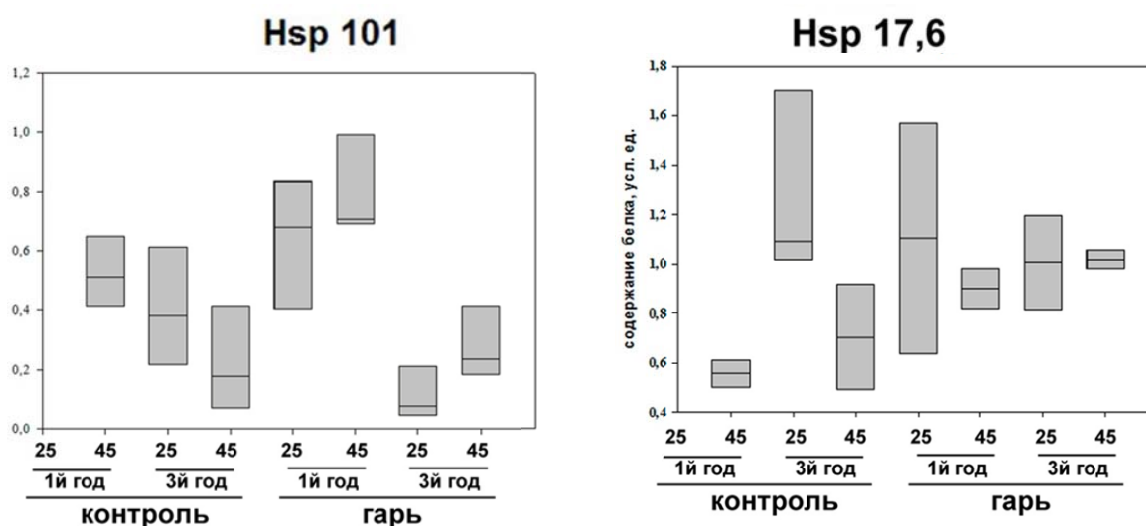


Рис. 2. Изменение содержания Hsp101 и Hsp 17,6 в хвое сосны обыкновенной, сформированной после искусственного выжигания 2014 г. Представлен результат денситометрической оценки интенсивности окрашивания белковых пятен: контроль – экспериментальной участок без огневого воздействия; гарь – экспериментальный участок после контролируемого выжигания 2014 года (25 – начальное содержание Hsp, после суток акклиматизации в лабораторных условиях; 45 – содержание Hsp, после обработки температурой 45 °С, в течение 1 часа). Интенсивность окрашивания каждого белка представлена в условных единицах относительно контроля, принятого за 1. Ме [25%; 75%], бары показывают минимальное и максимальное значения.

На рис. 2 представлены результаты по оценке содержания белков в хвое 1 и 3 года, сформированной в восстановительном периоде, т.е. не испытывающей влияние высоких температур при контролируемом выжигании 2014 года. Исследование содержания Hsp проводилось в хвое побегов, отобранных в период выхода из покоя (апрель), после суток акклиматизации в лабораторных условиях. Можно отметить, что в хвое 1 года жизни содержание Hsp101 немного выше относительно хвои 3 года жизни

как с контрольной пробной площади, так и с участка, на котором было проведено экспериментальное горение.

Термическая обработка (45 °С/1 час) не привела к накоплению Hsp 101, Hsp 17,6 в хвое контрольных деревьев, напротив наблюдается снижение в содержании данных белков, относительно начального уровня. В данном случае снижение способности растительных клеток к экспрессии белков теплового шока, возможно, может определять отсутствие резистентности к тепловому стрессу во время выхода из состояния зимнего покоя. Видимо, даже предварительная акклимация побегов при комнатной температуре не смогла полностью активировать тепловую регуляцию хвои. Однако термическая обработка для хвои 1 и 3 года жизни с деревьев, произрастающих на пробной площади после выжигания, привела к накоплению Hsp 101 относительно исходного содержания. Однако существенного накопления Hsp17,6 в послепожарной хвое постле стрессирования при 45 °С не произошло. Таким образом, хвоя сосны обыкновенной, сформированная после низового пожара, в результате повторного прогревания накапливает Hsp 101 и, возможно, обладает большей устойчивостью к повторному действию сублетальных температур.

Проведенное исследование выявило признаки стрессового состояния древостоя в виде накопления Hsp в краткосрочном послепожарном периоде. В дальнейшем сформированные «постпирогенные условия» могут способствовать повышению устойчивости организма в целом, что может определять его резистентность к повреждающим факторам среды. По нашим сведениям это первое исследование динамики содержания стрессовых белков в хвое сосны обыкновенной на различных этапах постпирогенного периода.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-34-50051 «мол_нр» (Оценка содержания стрессовых белков в хвое сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) после низовых пожаров в условиях Красноярской лесостепи).*

Литература

- Загирова С.В. Структура ассимиляционного аппарата и СО₂-газообмен у хвойных. – Екатеринбург: Российская АН, 1999. – 108 с.
- Иванова Г.А., Конард С.Г., Макрае Д.Д. Воздействие пожаров на компоненты экосистемы среднетаежных сосняков Сибири. – Новосибирск: Наука, 2014. – 232 с.
- Кулаева О.Н. Белки теплового шока и устойчивость растений к стрессу // Соросовский образовательный журнал. – 1997. – № 2. – С. 5–13.
- Курбатский Н.П. Техника и тактика тушения лесных пожаров. – Москва: Гослесбумиздат, 1962. – 154 с.
- Фуряев В.В., Фуряев Е.А. Пирозкологические свойства сосны обыкновенной в Средней Сибири // Хвойные бореальной зоны. – 2008. – № 1-2. – С. 103–108.
- Цветков П.А. Пирогенные свойства древесных пород // Лесоведение. – 2011. – № 2. – С. 25–31.
- Al-Whaibi Mohamed H. Plant heat-shock proteins: a mini review // Journal of King Saud University – Science. – 2011. – V. 23. – P. 139–150.
- 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.
- Korovin G.N. Analysis of the distribution of forest fires in Russia // Fire in Ecosystems of Boreal Eurasia. – Dordrecht; Boston; London: Kluwer Academic Publishers, 1996. – P. 112–128.

DETERMINATION OF THE HEAT SHOCK PROTEINS IN THE NEEDLES OF *PINUS SYLVESTRIS* L. IN POST-FIRE PERIOD

I.G. Gette¹, N.E. Korotaeva², I.V. Kosov³, G.B. Borovskii²

¹Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia, *getteirina@yandex.ru*

²Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, *knev73@yandex.ru*

³«Sukachev Institute of Forest SB RAS», Krasnoyarsk, Russia

Abstract. The paper presents the experimental results of measuring the semiquantitative content of heat shock proteins (Hsp) of pine needles (*Pinus sylvestris* L.) as a criterion for assessing the overall physiological status. Our results are reflective of Hsp content in needles to a direct (response of trees to the fire effect) and the indirect effect of fire (response on the features of environment in post-fire period).

Keywords: *forest fires, heat shock proteins, scots pine, post-fire period*