



УДК 574.2; 581.19

Динамика активности пероксидазы хвои сосны обыкновенной в Предбайкалье

И. М. Романова, М. А. Живетьев, Т. А. Пензина, И. А. Граскова

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск
E-mail: nik.19@mail.ru

Аннотация. Проанализированы внутригодовые изменения активности пероксидазы в хвое произрастающей на территории Предбайкалья сосны обыкновенной *Pinus sylvestris*. Определяли общую активность гваякол-зависимой пероксидазы в хвое первого, второго и третьего годов. Активность изменяется в зависимости от сезона года: минимум наблюдается в январе-феврале, в марте отмечается сильная повсеместная активация пероксидазы в хвое всех возрастов, что может быть связано с весенним усилением физиологических процессов и активацией обмена веществ. Для осеннего периода характерна относительно высокая активность гваякол-пероксидазы, что связано с её участием в процессах стресс-адаптации к низким температурам в зимний период. Хвое разного возраста свойствен специфический уровень активности пероксидазы в разные периоды года.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris* L., гваякол-зависимая пероксидаза, активность.

Введение

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) является одним из основных лесообразующих видов на территории Предбайкалья. В условиях Сибири в течение года она подвергается сильно выраженной смене температурных условий, что должно отражаться на функционировании её ферментных систем в разные сезоны года и фазы развития, поскольку температура окружающей среды является основным лимитирующим фактором роста и развития растения, особенно в зимний период [5]. Одним из ферментов, наиболее выраженно реагирующим на изменение условий окружающей среды, является пероксидаза. Наличие множественных форм этого фермента позволяет ему действовать в разных условиях и выполнять разную функциональную нагрузку [3]. Так, изменения активности и изоферментного спектра пероксидазы отмечают при различных биологических, физических и химических воздействиях на растения [1; 2; 9; 20], в том числе при температурном стрессе [7; 16; 15; 19; 17], химическом загрязнении окружающей среды [8; 14; 10; 13; 18] и при интродукции растений в новые экологические условия [6]. Целью настоящих исследований являлся анализ изменения активности пероксидазы в хвое произрастающей на территории Предбайкалья сосны обыкновенной в течение года.

Материалы и методы

Исследования проводились на участках близ посёлков Бол. Луг, Олха и Мельничная Падь, а также близ промплощадки Иркутского алюминиевого завода («РУСАЛ-ИркАЗ»). Пробы отбирались ежемесячно с ноября 2011 г. по сентябрь 2012 г. Отбирали хвою первого, второго и третьего годов, а с июля 2012 г. – молодую («новую») хвою. В тканях образцов определяли общую активность гваякол-зависимой пероксидазы. Навеску (1 г) ткани помещали в 10 мл холодного цитратно-фосфатного буфера и растирали в фарфоровой ступке при 4 °С [11]. Полученный гомогенат центрифугировали при 3 тыс. об./мин. (Eppendorf, Германия) в течение 15 мин. Супернатант использовали для определения активности фермента.

Активность растворимых пероксидаз в листьях растений определяли по изменению оптической плотности (длина волны 580 нм) в реакционной смеси следующего состава: 0,5 мл 0,1 М цитратно-фосфатного буфера (рН от 4,0 до 7,0 с шагом 0,2), 0,5 мл 0,3%-ной перекиси водорода («Реахим», Россия), 0,5 мл 0,05 % гваякол (Sigma, США) и 0,5 мл пробы на спектрофотометре Spekol 10 (Karl Zeiss, Германия). Определение проводили при 25 °С сразу после выделения ферментов из образцов. Активность фермента выражали в условных единицах на 1 мг сырого веса тканей по формуле:

$$A = \sum (\alpha \beta \gamma) / d t,$$

где \sum – экстинция (0,125), α – отношение количества буфера, взятого для приготовления вытяжки в 1 мл к массе сырой ткани; β – степень дополнительного разведения вытяжки в реакционной смеси; γ – степень постоянного разведения вытяжки в реакционной смеси; d – толщина поглощающего слоя кюветы; t – время реакции [4].

Результаты и обсуждение

Как показали полученные результаты, во всех точках отбора проб минимум активности пероксидазы наблюдается в январе-феврале в хвое всех возрастов (рис., А–Г).

Это может быть связано с тем, что растения находятся в состоянии вынужденного покоя. В марте отмечается сильная повсеместная активация пероксидазы хвои всех трёх лет, что может быть связано с весенним усилением физиологических процессов в хвое и с активацией обмена веществ в связи с переключением зимнего замедленного метаболизма на оживлённый весенне-летний. В апреле происходит спад активности фермента, но в мае, перед появлением молодой хвои, наблюдается новый пик активности пероксидазы, сопровождающийся появлением новых побегов и их усиленным ростом.

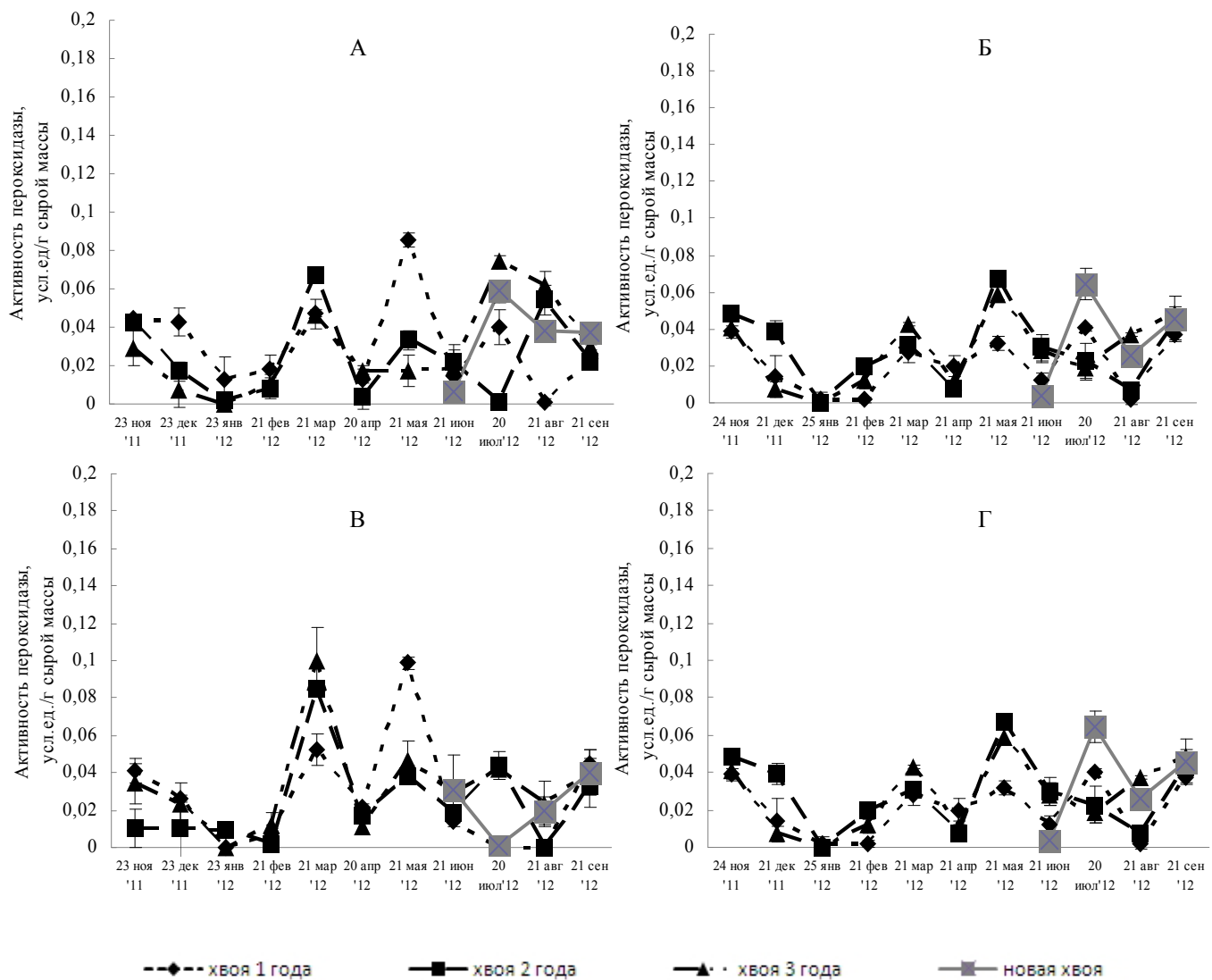


Рис. Годовая динамика активности гваякол-пероксидазы в хвое сосны обыкновенной, произрастающей на территории Предбайкалья. А – близ промплощадки ИркАЗ; Б – Мельничная Падь; В – Олха; Г – Бол. Луг. Образцы хвои отобраны в ноябре-декабре 2011 г. и январе-сентябре 2012 г.

При этом в хвое третьего года у ИркаЗа такое возрастание регистрируется заметно позже, в июле. С ноября по июль в этой точке хвоя первого года обладала большей активностью пероксидазы по сравнению с хвоей второго года, значения же активности хвоя третьего года оказались еще ниже. Такие данные дают основание предполагать угнетение деятельности фермента в хвое сосны на этом участке. В то же время с появлением новой хвои в июне-июле наблюдается сильный рост активности пероксидазы именно у хвои третьего года, причём этот рост превышал в два раза увеличение активности хвоя первого года, а хвоя второго года увеличивала свою активность только к августу (ИркаЗ). Близ пос. Мельничная Падь (рис., Б) с ноября по май активность пероксидазы в хвое второго года выше, чем в хвое других генераций. У пос. Олха (рис., В) в течение всего года преобладает активность этого фермента в хвое третьего года, за исключением мая, на который приходился пик показателя в хвое первого года.

Самые высокие пиковые значения активности фермента за весь период наблюдений отмечены для деревьев близ Бол. Луга (рис., Г) (в хвое первого года – в июне, второго года – в мае, третьего года – в июле), ниже – близ Олхи (в хвое первого года – в мае, второго и третьего – в марте) и еще ниже – у ИркаЗа (в хвое первого года – в мае, второго года – в марте, третьего – в июле). Менее всего максимумы активности выражены у растений из Мельничной Пади: в мае – в хвое второго и третьего года, в июле – в новой хвое, в хвое же первого года активность остаётся на относительно низком уровне и её летние пики не превышают зимние. Это позволяет предположить подверженность сосны из первых трёх точек каким-либо стрессующим факторам в отличие от района Мельничной Пади.

Более или менее высокие значения активности гваякол-зависимой пероксидазы, регистрируемые с сентября по ноябрь-декабрь, связаны с её участием в процессах стресс-адаптации к низким зимним температурам.

Заключение

Показано, что активность пероксидазы в хвое сосны обыкновенной изменяется в зависимости от сезона года, что, вероятнее всего, связано с температурным режимом и ходом процессов жизнедеятельности растительного организма. При этом хвое разного возраста свойственен разный уровень активности пероксидазы в разные периоды времени. Наблюдаются существенные отличия в динамике актив-

ности пероксидазы в разных точках отбора, которые отличаются по температурному режиму, по количеству осадков, по техногенной нагрузке.

Литература

1. Активность и термостабильность антиоксидантных ферментов корней проростков пшеницы после воздействия экзогенного пероксида водорода / Ю. В. Карпец [и др.] // Вестн. Харьк. нац. агр. ун-та. – 2009. – № 2. – С. 62–70.
2. Андреева В. А. Активность изоферментных спектр, термостабильность и молекулярный вес пероксидазы, выделенной из здоровых и зараженных вирусами растений табака / В. А. Андреева, В. А. Воронова, Н. Н. Угарова // Биохимия. – 1979. – № 3. – С. 394–398.
3. Андреева В. А. Фермент пероксидаза / В. А. Андреева. – М.: Наука, 1988. – 128 с.
4. Бояркин А. Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы // А. Н. Бояркин // Биохимия. – 1951. – № 16. – С. 352.
5. Динамика изоферментного состава пероксидазы и содержания пигментов в хвое видов *Picea Dieter.*, интродуцированных в Карелию [Электронный ресурс] / Т. А. Шуляковская [и др.] // Hortus Botanicus. – 2006. – URL: <http://hortus.karelia.ru/bgm/hb.htm>. – С. 1–8.
6. Долгова Л. Г. Активность пероксидазы – показатель устойчивости растений-интродуцентов в условиях степной зоны Украины / Л. Г. Долгова // Вестн. Днепрпетр. ун-та. – № 1. – С. 38–41.
7. Ершова А. Н. Метаболическая адаптация растений к гипоксии и повышенному содержанию диоксида углерода / А. Н. Ершова. – Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2007. – 264 с.
8. Жуйкова Т. В. Адаптация растительных систем к химическому стрессу: популяционный аспект / Т. В. Жуйкова, В. С. Безель // Вестн. Удмурт. ун-та. – 2009. – № 1. – С. 31–42.
9. Колупаев Ю. Е. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров / Ю. Е. Колупаев, Ю. В. Карпец. – Киев: Основа, 2010. – 352с.
10. Неверова О. А. Использование активности пероксидазы для оценки физиологического состояния древесных растений и качества атмосферного воздуха г. Кемерово / О. А. Неверова // Krylovia. – 2001. – № 2. – С. 122–128.
11. Паду Э. Х. Свойства пероксидазы и фенилаланин-аммиак-лиазы при образовании и лигнификации клеточных стенок стебля пшеницы / Э. Х. Паду // Физиология растений. – 1995. – Т. 42. – С. 408–415.
12. Рогожин В. В. Пероксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов / В. В. Рогожин. – СПб.: ГИОРД, 2004. – 240 с.
13. Сарсенбаев К. Н. Влияние двуокиси серы на активность и компонентный состав свободной и связанной фракции пероксидазы проростков яровой пшеницы / К. Н. Сарсенбаев, Н. И. Мезенцева, Ф. А. Полимбетова // Физиология и биохимия культ. растений. – 1983. – № 1. – С. 51–55.
14. Шилова И. И. Естественная растительность свалок и полигонов твердых бытовых и промышлен-

ленных отходов в условиях крупного промышленного города / И. И. Шилова // Естественная растительность промышленных и урбанизированных территорий Урала. – 1990. – С. 41–57.

15. Gülen H. Effect of heat stress on peroxidase activity and total protein content in strawberry plants / H. Gülen, A. Eris // *Plants science*. – 2004. – N 3. – P. 739–744.

16. Müftügil N. The peroxidase enzyme activity of some vegetables and its resistance to heat / N. Müftügil // *J. Sci. Food Agric*. – 1985. – N 36. – P. 877–880.

17. Peroxidase activity and lipid peroxidation in strawberry (*Fragaria x ananassa*) plants under low

temperature / H. Gülen [et al.] // *J. Biol. Environ. Sci.* – 2008. – N 2. – P. 95–100.

18. Siesko M. M. Stress protein synthesis and peroxidase activity in a submersed aquatic macrophyte exposed to cadmium / M. M. Siesko, W. J. Fleming, R. M. Grossfeld // *Environ. Toxicol. and Chem.* – 1997. – N 8. – P. 1755–1760.

19. Thongsook T. Heat inactivation and reactivation of broccoli peroxidase / T. Thongsook, D. Barrett // *J. Agric. Food Chem.* – 2005. – N 53. – P. 3215–3222.

20. Zolfaghari R. Relationship between peroxidase and catalase with metabolism and environmental factors in Beech (*Fagus orientalis* Lipsky) in three different elevations / R. Zolfaghari, S. M. Hosseini, S. A. A. Korori // *Int. J. of Env. Sci.* – 2010. – N 2. – P. 243–252.

Dynamics of peroxidase activity in *Pinus sylvestris* needles in Prebaicalia

I. M. Romanova, M. A. Zhivetyev, T. A. Penzina, I. A. Graskova

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk

Abstract. The object of this study was to analyze changes in peroxidase activity in needles of *Pinus sylvestris* during a year. We collected first, second, third years needles. The activity of guaiacol dependence peroxidase was determined. The minimum peroxidase activity was showed in January-February. Increasing of peroxidase activity in needles of all years in March accompanied with intensification physiological processes and activation of metabolism in plant in spring. There are more or less high level guaiacol peroxidase activities from September to November due to contribution of it at stress-adaptation to low temperature in winter period. Peroxidase activities are change during a year due. There are own level peroxidase activity for needles different generation years at different time period.

Keywords: *Pinus sylvestris* L., guaiacol dependence peroxidase, activities.

Романова Ирина Михайловна
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132
аспирант
тел. (3952)42–50–09
E-mail: nik.19@mail.ru

Romanova Irina Mikhaylovna
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS
132 Lermontov St., Irkutsk, 664033
doctoral student
phone: (3952) 42–50–09
E-mail: nik.19@mail.ru

Живетьев Максим Аркадьевич
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132
кандидат биологических наук,
младший научный сотрудник
тел. (3952)42–50–09
E-mail: nik.19@mail.ru

Zhivetyev Maksim Arkadyevich
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS
132 Lermontov St., Irkutsk, 664033
Ph. D. in Biology, junior research scientist
phone: (3952) 42–50–09
E-mail: nik.19@mail.ru

Пензина Татьяна Александровна
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
тел. (3952)42–50–09
E-mail: matmod@sifibr.irk.ru

Penzina Tatyana Aleksandrovna
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS
132 Lermontov St., Irkutsk, 664033
Ph. D. in Biology, senior research scientist
phone: (3952) 42–50–09
E-mail: matmod@sifibr.irk.ru

Граскова Ирина Алексеевна
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132
доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник
тел. (3952) 42–49–03
E-mail: matmod@sifibr.irk.ru

Graskova Irina Alekseevna
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS
132 Lermontov St., Irkutsk, 664033
D. Sc. in Biology, leading research scientist
phone: (3952) 42–49–03
E-mail: matmod@sifibr.irk.ru