

## ДИНАМИКА ИЗОФЕРМЕНТНОГО СОСТАВА ПЕРОКСИДАЗЫ И СОДЕРЖАНИЯ ПИГМЕНТОВ В ХВОЕ ВИДОВ *PICEA DIETER.*, ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ В КАРЕЛИЮ

Шуляковская Т. А., Ильинова М. К., Кищенко И. Т., Потапова М. Н.

*Исследования проводились в Ботаническом саду Петрозаводского государственного университета (подзона средней тайги). Изучали годичную динамику изоферментов пероксидазы и пигментов в хвое первого года у аборигенного (*Picea abies* (L.) Karst. и 5 интродуцированных видов *Picea Dieter.**

*Установлена высокая изменчивость спектра изопероксидаз в хвое видов *Picea* в годичном цикле. Отмечены молекулярные формы пероксидазы, которые характерны для периода роста или покоя. У некоторых видов обнаружены изоферменты, появляющиеся только во время глубокого покоя. У аборигенного и интродуцированных видов рода *Picea* в процессе приспособления к перенесению неблагоприятных условий зимы наблюдается повышение гетерогенности спектра изопероксидаз в хвое, появление молекулярных форм фермента, характерных для периода покоя. Перестройка изоферментной системы обеспечивает устойчивость растений к воздействию внешних факторов и регуляцию гомеостаза.*

*Содержание хлорофилла и каротиноидов в хвое изучаемых видов подвержено значительным сезонным изменениям и во многом определяется их биологическими особенностями. Концентрация пигментов закономерно возрастает к концу вегетационного периода, а зимой – несколько уменьшается. Общее количество пигментов в хвое аборигенного и интродуцированных видов сравнительно одинаково, что свидетельствует о сходной скорости формирования их фонда. К наступлению покоя растет соотношение суммы хлорофиллов к сумме каротиноидов и достигает, примерно, одинакового уровня у всех видов *Picea*.*

Известно, что большинство аборигенных видов древесных растений таежной зоны России плохо переносят прогрессирующее загрязнение окружающей среды. Между тем, виды хвойных растений, в том числе и рода *Picea* других географических районов, устойчивы к загазованности и задымленности, долговечны и весьма декоративны в течение всего года (Встовская, 1983; Плотникова, 1983). Кроме того, многие из них отличаются значительно большей продуктивностью, чем местные виды, и нередко способны к натурализации [Калуцкий, Болотов, 1983; Мамаев, Махиев, 1996]. Повышение биологического разнообразия естественных и искусственных фитоценозов, по мнению ряда исследователей [Мамаев, Махиев, 1996; Буданцев, 1999], возможно только через интродукцию древесных растений. Все это свидетельствует о необходимости интродукции хвойных и оценки их перспективности. Последняя может быть установлена лишь на основе всестороннего изучения адаптаций, происходящих у испытуемых растений в новых условиях произрастания [Ворошилов, 1960; Базилевская, 1964].

В Карелии основным экологическим фактором, лимитирующим рост и развитие растений, является низкая температура воздуха в зимний период. Исследованиями многих авторов [Новицкая, 1971; Сергеева, 1971; Туманов, 1979; Петухова, 1981; Трунова, 1990] показано, что устойчивость растений к низким температурам обеспечивается их подготовкой к периоду глубокого покоя, которая состоит в специальных физиологических и цитологических перестройках. Ферменты, катализирующие реакции окисления и восстановления, как наиболее чувствительные структуры, могут характеризовать адаптационные способности растений в новых условиях произрастания [Климаченко, 1972]. Пероксидаза катализирует окисление ряда органических соединений, играет

важную роль в дыхании растений, регуляции ростовых процессов, синтезе лигнина. Разнообразие этих функций объясняет наличие большого числа молекулярных форм энзима [Кавац, Роне, 1975; Андреева, 1988; Сидоров и др., 1989].

Состояние пигментной системы, динамика и соотношение ее компонентов, по мнению ряда авторов [Осицкая, 1965, Петренко и др., 1970; Озолина, Мочалкин, 1972; Ходасевич, 1982], также может служить надежным показателем степени адаптации растений ко многим факторам, в том числе и к низким температурам. Состав пероксидаз, а также пигментный состав хвои интродуцированных в Карелии видов до сих пор не изучался.

Цель исследований – определить устойчивость интродуцированных видов *Picea* к низкой температуре воздуха по динамике изоферментного состава пероксидазы и содержания пигментов в хвое.

### **Место и методика исследований**

Исследования проводились в Ботаническом саду Петрозаводского государственного университета (подзона средней тайги). Объектами служили 1 аборигенный и 5 интродуцированных видов *Picea* (табл. 1).

Для проведения биохимического анализа отбирали однолетнюю хвою с нескольких деревьев каждого вида из средней части кроны с разных сторон 5 раз в год (1992–1993 гг.) в периоды набухания вегетативных почек (май), интенсивного роста побегов (конец июня), перехода к глубокому покою (середина сентября), глубокого покоя (конец октября) и вынужденного покоя (февраль). Результаты проведенных ранее исследований [Кищенко, 2000] показали, что различия в сроках прохождения указанных фенофаз у изучаемых видов не превышают 1 недели, в связи с

чем одновременное взятие образцов представлялось вполне корректным. Состояние глубокого и вынужденного покоя устанавливали в лабораторных условиях по набуханию вегетативных почек.

Образцы хвои для определения изоферментного состава пероксидазы замораживали жидким азотом и измельчали на электрической мельнице. Экстракцию ферментов из растительного материала проводили трис-глициновым буфером (pH 8.3), содержащим 0.1 % ЭДТА, 1 % тритона X-100 [Ларионова, 1979]. Для очистки белков от фенолов применяли ионообменную смолу Дауэкс 1×8 (200–400 меш). Экстракцию вели в течение 1 часа в холодильнике. Разделение изоферментов осуществляли методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле [Сафонова,

Сафонова, 1969; Маурер, 1971]. Окраску на геле зон с ферментативной активностью производили по В. И. Сафонову и М. П. Сафоновой [1971]. Подвижность отдельных изоформ в электрическом поле, измеряемой величиной ОЭП (относительная электрофоретическая подвижность), рассчитывали путем деления расстояния, пройденного данной фракцией, на расстояние от старта до финиша, пройденное красителем-метчиком (бромфенол синий). Спектры пероксидазы состоят из низко-, средне- и высокоподвижных фракций. ОЭП фракций низкой подвижности составляет от 0 до 0.33, средней – от 0.34 до 0.66 и высокой – от 0.67 до 1.0 [Садвакасова, Кунаева, 1987]. Содержание пигментов определяли по методу Р. С. Лимарь и О. В. Сахаровой [1973].

**Таблица 1. Возраст и высота изученных видов *Picea*, интродуцированных в Карелию**

| Вид  | Происхождение посадочного материала | Средний возраст, лет | Средняя высота, м | Наличие семеношения |
|--|-------------------------------------|----------------------|-------------------|---------------------|
| <i>Picea abies</i> (L.) Karst.                     | Петрозаводск                        | 19                   | 5.8               | Нет                 |
| <i>P. abies</i> (L.) Karst.                        | Петрозаводск                        | 50                   | 16.0              | Есть                |
| <i>P. pungens</i> Engelm. f. <i>glauca</i> Regel.  | С.–Петербург                        | 36                   | 12.7              | Есть                |
| <i>P. pungens</i> Engelm. f. <i>viridis</i> Regel. | С.–Петербург                        | 36                   | 10.7              | Есть                |
| <i>P. glauca</i> (Mill.) Britt.                    | С.–Петербург                        | 33                   | 11.2              | Есть                |
| <i>P. omorica</i> (Panc) Purk.                     | Бухарест                            | 27                   | 5.7               | Нет                 |
| <i>P. mariana</i> Britt.                           | Бухарест                            | 19                   | 4.7               | Нет                 |
| <i>P. obovata</i> Ledeb.                           | Минск                               | 23                   | 6.4               | Нет                 |

### Результаты

Спектр изоформ пероксидазы характеризуется весьма высокой лабильностью, что дает основание отнести ее к маркерам физиологического состояния растений [Полозова, 1978; Гордей и др., 1988; Негру и др., 1988; Савич, Перуанский, 1990]. Изоферментный спектр пероксидазы изучаемых видов *Picea* очень изменчив в течение года и содержит лишь по 1–2 стабильных фракций у каждого вида. У *P. abies*, *P. pungens* и *P. glauca* гетерогенность состава изопероксидаз возрастает при переходе от роста к покою. Это не характерно для *P. omorica*, *P. mariana* и *P. obovata*. Максимальное число изоформ фермента (14) отмечено у молодых деревьев *P. abies* в период глубокого покоя (табл. 2). ОЭП изоформ зависит от величины молекулы фермента и ее заряда: более мелкие и высокозаряженные молекулы быстрее продвигаются через молекулярное сито полиакриламидного геля в электрическом поле.

Разнообразие изоферментов пероксидазы – результат изменений аминокислотного состава белковой части молекулы фермента, состава сахаров углеводной части или агрегации низкомолекулярных форм [Садвакасова, Кунаева, 1987]. Большая часть изоформ пероксидазы в хвое изучаемых видов имеет среднюю подвижность. В период вынужденного покоя у многих видов (кроме *P. glauca* и *P. mariana*) в зоне низкой подвижности растет количество фракций фермента (от 4 до 6 изоформ; табл. 2).

У каждого изучаемого вида в течение года обнаружено от 15 до 20 различных изоферментов пероксидазы. В целом для видов рода *Picea* наибольшая частота встречаемости установлена у фракций с ОЭП 0.43–0.46; 0.40–0.42; 0.53–0.56; 0.37–0.39 и 0.71–0.75. Обнаружены изоформы, которые появляются в хвое *Picea* того или другого вида только в период роста или покоя. Так, у *P. glauca* во время вегетативного роста в хвое присутствуют изоформы с ОЭП 0.30–0.32 и 0.37–0.39, а с наступлением покоя у них несколько изменяется подвижность, появляются изоферменты с О.Э.П. 0.33–0.35 и 0.40–0.42. У *P. mariana* для роста характерны фракции с ОЭП 0.12–0.14 и 0.28–0.29, для покоя – с ОЭП 0.45–0.46. У некоторых видов *Picea* в хвое отмечены изопероксидазы, появляющиеся только в период глубокого покоя. Например, у *P. abies* это фракции с ОЭП. 0.58–0.59; 0.76–0.78 и 0.82–0.84; у *P. obovata* это изоформы с ОЭП. 0.37–0.38 и 0.39 (две вместо одной с ОЭП 0.37–0.39), 0.47–0.49 и 0.80–0.81. Молекулярные формы пероксидазы различаются кроме прочих признаков и оптимальными условиями, необходимыми для проявления каталитической активности [Садвакасова, Кунаева, 1987]. Разные условия окружающей среды в периоды роста и покоя обуславливают проявление активности различных изоформ пероксидазы. Этим объясняется изменение спектра изопероксидаз при смене фенологических фаз.

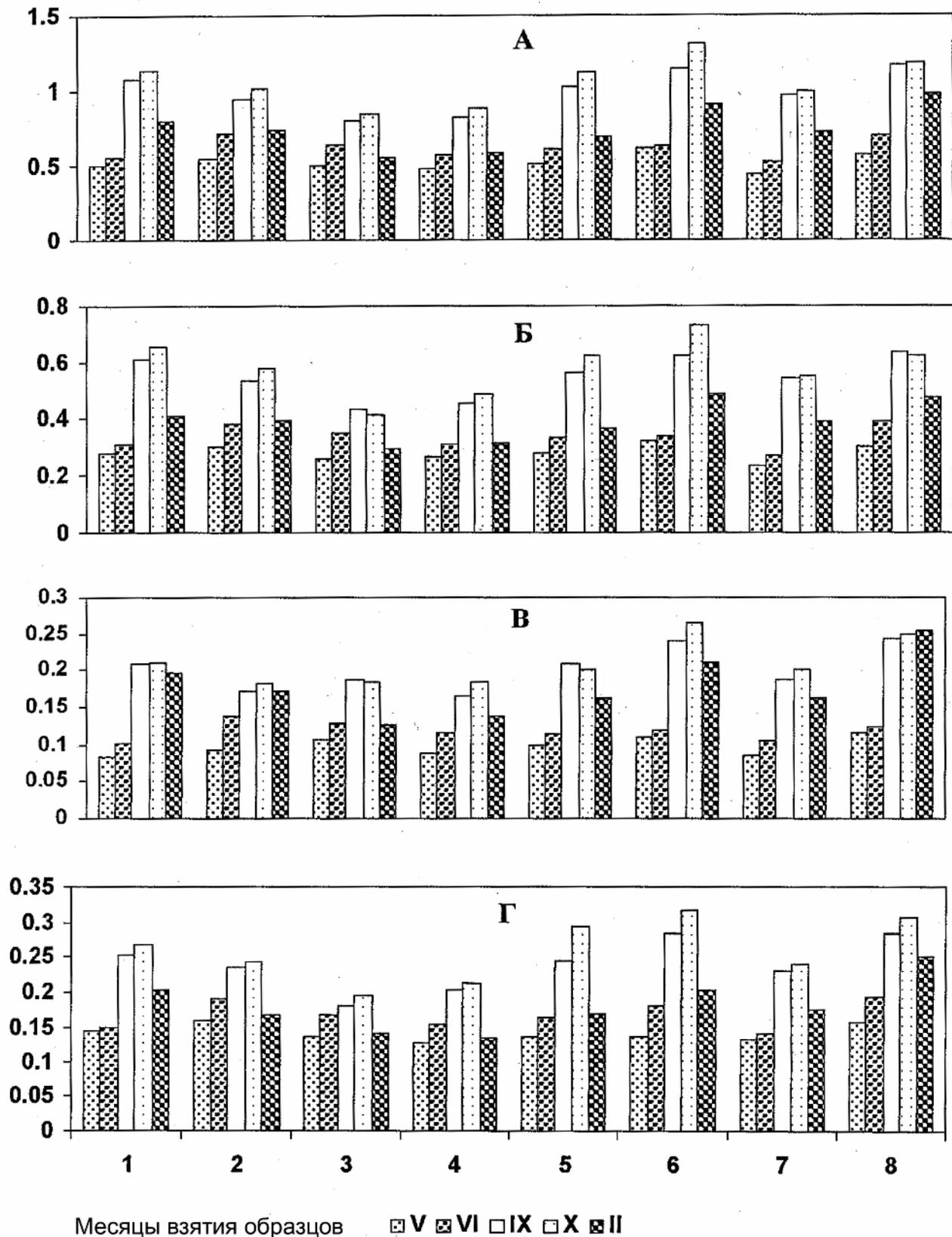


Рисунок 1. Динамика содержания суммарных пигментов – (А), хлорофилла "а" – (Б), хлорофилла "б" – (В) и каротиноидов – (Г). По оси абсцисс – *Picea abies* (19 лет) – (1); *P. abies* (50 лет) – (2); *P. pungens f. glauca* – (3); *P. pungens f. viridis* – (4); *P. glauca* – (5); *P. mariana* – (6); *P. omorica* – (7); *P. obovata* – (8). По оси ординат – содержание вещества, мг/г сыр. вещества

Сравнение наборов изоферментов разных видов и форм рода *Picea* показало сходство между родственными формами, особенно в период покоя. Так, у

*P. pungens f. glauca* и *P. pungens f. viridis* во время роста (июнь) из 7–9 фракций обнаружено четыре–пять одинаковых, а в период покоя из 10 форм – во

семь – девять. У деревьев *P. abies* разного возраста наборы изоферментов содержат по 5–7 сходных форм при изменении количества фракций в течение мая – октября от 5 до 13, а в период вынужденного покоя в феврале они почти одинаковы – по 9 (из 10–11).

Таким образом, установлена высокая изменчивость спектра изоферментов пероксидазы в хвое изучаемых видов в течение года. Стабильностью отличаются лишь 1–2 компонента спектра у каждого вида или формы. Отменены молекулярные формы пероксидазы, которые присутствуют в хвое только в период роста или покоя. Они, очевидно, осуществляют разные функции в растении: одни участвуют в процессах роста, другие играют защитную роль, обеспечивая растению возможность в условиях низких температур получать энергию, необходимую для поддержания жизнедеятельности в зимний период [Воронков, 1967; Полозова, 1978; Негру и др., 1988].

Пероксидазу считают основной зимней дыхательной системой [Окунцов, Аксенова, 1960]. У местного вида, а также у некоторых интродуцентов (*P. pungens*, *P. glauca*) количество изоферментов пероксидазы в период покоя больше, чем во время вегетации. У *P. mariana*, *P. omorica* и *P. obovata* в спектре изоформ не увеличивается число фракций при переходе от роста к покою, а происходит лишь их качественное изменение. Исследование видов рода *Pinus* [Семкина, 1985], рода *Picea* [Кавац, Роне, 1975; Кавац, 1978] и рода *Larix* [Ларионова, 1979] показали, что весенне-летний период, когда протекают ростовые процессы, характеризуется обедненным спектром изоферментных фракций пероксидазы, а осенне-зимний – обогащенным.

Изучение одного из важных физиологических показателей устойчивости – состава изоферментов пероксидазы – выявило сходство механизмов адаптации у разных видов и форм рода *Picea*. Как у аборигенного, так и у интродуцированных видов, в процессе приспособления к перенесению неблагоприятных условий зимы наблюдается тенденция к повышению гетерогенности спектра изоферментов пероксидазы в хвое и появлению молекулярных форм фермента, характерных для периода покоя. Перестройка изоферментной системы обеспечивает устойчивость организма к воздействию внешних факторов и регуляцию гомеостаза (Редькин, 1974).

Изменения во внешней среде в первую очередь отражаются на хлоропластах, где основную роль в ассимиляции углекислого газа играют зеленые и желтые пигменты. Установлено [цит. по Новицкой, 1967], что содержание пластидных пигментов в листьях сравнительно морозостойких видов и сортов плодовых культур, как правило, значительно выше. Поэтому изучение механизмов адаптации древесных

растений в районах с суровыми климатическими условиями должно включать определение состояния пигментной системы в сравнении с устойчивыми аборигенными видами.

Результаты проведенных исследований позволили установить, что содержание суммы пластидных пигментов в хвое изучаемых видов рода *Picea* подвержено значительным сезонным колебаниям (от 0.45 до 1.30 мг/г сырого вещества). Их содержание закономерно увеличивается (более чем в 2 раза) в течение вегетации, достигая максимума осенью, а затем в течение зимы несколько (на 20–25 %) уменьшается (рис.). Содержание суммы пластидных пигментов в хвое *P. mariana* и *P. obovata* в течение всего года на 20–40 % выше, чем у других изучаемых видов. Аналогичная тенденция прослеживается и в динамике содержания отдельных компонентов пигментной системы – хлорофилла “а” и “б”, а также каротиноидов.

Величина отношения содержания хлорофилла “а” к хлорофиллу “б” в хвое изучаемых видов растений от весны к зиме, как правило, постепенно снижается (от 3 до 2, табл. 3). Величина отношения содержания суммы зеленых пигментов к сумме желтых пигментов повышается к периоду покоя (табл. 3). В осенне-зимний период величина данного показателя у всех изучаемых видов рода *Picea* достигает примерно одинаковых значений (около 3). Это свидетельствует о значительном сходстве в характере формирования фонда пигментов в хвое аборигенного и интродуцированных видов. Следовательно, фотосинтезирующий аппарат изучаемых интродуцентов *Picea* способен перестраивать свою пигментную систему для ее приспособления к суровым зимним условиям точно также, как и аборигенный вид – *Picea abies*. Результаты исследований Д. Ф. Проценко и Л. А. Сиренко [1964] [цит. по Новицкой, 1967] и Э. В. Ходасевича [1982] свидетельствуют о том, что концентрация пигментов в хвое может рассматриваться как показатель устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды.

Известно, что пластидные пигменты принимают участие во многих физиологических и биохимических процессах растительного организма [Озолина, Мочалкин, 1972]. Кроме того, установлено [Осницкая, 1965; Петренко и др., 1970], что воздействие на растение неблагоприятных факторов может вызывать защитно-приспособительные реакции, заключающиеся в переходе пигментов к функции окислителя или стимулятора окислительного фосфорилирования и образования АТФ, в связи с чем их содержание возрастает. Вероятно, этим и можно объяснить увеличение содержания пигментов в хвое *Picea mariana* и *P. obovata* в течение всего года по сравнению с другими интродуцентами.

Таблица 2. Изоферменты пероксидазы хвои разных видов *Picea*

| ОЭП фракций  | № фракций | <i>Picea abies</i><br>(19 лет) | <i>P. abies</i><br>(50 лет) | <i>P. pungens f. glauca</i> | <i>P. pungens f. viridis</i> | <i>P. glauca</i> | <i>P. mariana</i> | <i>P. omarica</i> | <i>P. obovata</i> |
|--|-----------|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| <b>Набухание вегетативных почек (середина мая)</b> |           |                                |                             |                             |                              |                  |                   |                   |                   |
| 0.03–0.05  | 1         | +                              |                             |                             |                              |                  |                   |                   | +                 |
| 0.07–0.09  | 2         |                                |                             | +                           | +                            |                  |                   |                   |                   |
| 0.12–0.14  | 3         |                                |                             | +                           |                              |                  | +                 |                   |                   |
| 0.20–0.22  | 4         |                                |                             | +                           |                              | +                |                   |                   |                   |
| 0.23–0.25  | 5         |                                |                             | +                           | +                            |                  |                   |                   |                   |
| 0.28–0.29  | 6         |                                |                             |                             | +                            |                  | +                 |                   |                   |
| 0.30–0.32  | 7         | +                              | +                           |                             | +                            | +                |                   |                   | +                 |
| 0.34–0.36  | 8         |                                |                             | +                           | +                            |                  |                   |                   | +                 |
| 0.37–0.39  | 9         | +                              |                             | +                           | +                            | +                | +                 | +                 |                   |
| 0.41–0.42  | 10        |                                |                             |                             |                              |                  |                   |                   | +                 |
| 0.43–0.45  | 11        | +                              | +                           |                             |                              | +                |                   | +                 | +                 |
| 0.47   | 12        |                                |                             |                             |                              | +                |                   |                   |                   |
| 0.48–0.50  | 13        |                                |                             |                             |                              | +                | +                 | +                 |                   |
| 0.51–0.53  | 14        | +                              | +                           |                             |                              |                  | +                 |                   |                   |
| 0.54–0.55  | 15        |                                |                             | +                           |                              |                  |                   | +                 |                   |
| 0.58–0.59  | 16        |                                |                             |                             |                              |                  | +                 |                   |                   |
| 0.62–0.63  | 17        |                                |                             |                             |                              |                  |                   |                   | +                 |
| 0.65–0.67  | 18        |                                |                             |                             |                              | +                |                   |                   |                   |
| 0.68–0.70  | 19        |                                |                             | +                           | +                            |                  |                   |                   |                   |
| 0.71–0.73  | 20        | +                              | +                           |                             |                              |                  | +                 |                   |                   |
| 0.75–0.76  | 21        |                                |                             |                             |                              | +                |                   |                   | +                 |
| 0.80–0.82  | 22        | +                              | +                           |                             | +                            |                  |                   | +                 |                   |
| 0.86   | 23        |                                |                             |                             |                              |                  |                   |                   |                   |
| Число изоформ                                      |           | 7                              | 5                           | 8                           | 8                            | 8                | 7                 | 5                 | 7                 |
| <b>Интенсивный рост побегов (середина июня)</b>    |           |                                |                             |                             |                              |                  |                   |                   |                   |
| 0.05–0.07  | 1         |                                | +                           |                             | +                            |                  |                   | +                 | +                 |
| 0.10–0.12  | 2         |                                |                             | +                           |                              |                  | +                 |                   |                   |
| 0.17–0.19  | 3         |                                | +                           |                             | +                            |                  |                   | +                 | +                 |
| 0.20–0.22  | 4         | +                              | +                           |                             | +                            |                  |                   |                   | +                 |
| 0.27–0.29  | 5         | +                              |                             |                             |                              |                  | +                 | +                 | +                 |
| 0.30–0.32  | 6         | +                              |                             |                             | +                            | +                | +                 | +                 | +                 |
| 0.34–0.36  | 7         | +                              | +                           |                             |                              |                  | +                 | +                 |                   |
| 0.37–0.39  | 8         |                                |                             | +                           | +                            | +                |                   |                   | +                 |
| 0.40–0.42  | 9         | +                              | +                           |                             |                              |                  | +                 | +                 |                   |
| 0.43   | 10        |                                |                             | +                           | +                            |                  |                   | +                 |                   |
| 0.45–0.46  | 11        | +                              | +                           |                             |                              |                  |                   |                   | +                 |
| 0.48–0.50  | 12        | +                              |                             | +                           | +                            | +                |                   | +                 |                   |
| 0.53–0.55  | 13        |                                |                             | +                           | +                            | +                | +                 |                   | +                 |
| 0.58   | 14        |                                |                             |                             |                              |                  | +                 | +                 |                   |
| 0.63–0.65  | 15        | +                              | +                           | +                           |                              |                  |                   |                   |                   |
| 0.70–0.72  | 16        |                                |                             |                             |                              |                  |                   | +                 | +                 |
| 0.73–0.75  | 17        | +                              | +                           |                             |                              | +                |                   |                   |                   |
| 0.77–0.78  | 18        | +                              |                             | +                           |                              |                  | +                 |                   |                   |
| 0.82   | 19        |                                |                             |                             | +                            |                  |                   |                   |                   |
| Число изоформ                                      |           | 10                             | 8                           | 7                           | 9                            | 5                | 8                 | 10                | 9                 |
| <b>Переход к глубокому покою (конец сентября)</b>  |           |                                |                             |                             |                              |                  |                   |                   |                   |
| 0.03–0.06  | 1         | +                              |                             | +                           | +                            |                  |                   |                   | +                 |

| ОЭП фракций                        | № фракций | <i>Picea abies</i><br>(19 лет) | <i>P. abies</i><br>(50 лет) | <i>P. pungens f. glauca</i> | <i>P. pungens f. viridis</i> | <i>P. glauca</i> | <i>P. mariana</i> | <i>P. omarica</i> | <i>P. obovata</i> |
|------------------------------------|-----------|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 0.10–0.12                          | 2         |                                |                             |                             |                              |                  |                   |                   |                   |
| 0.16–0.18                          | 3         |                                |                             | +                           | +                            | +                |                   | +                 | +                 |
| 0.21–0.22                          | 4         |                                | +                           | +                           | +                            |                  | +                 | +                 |                   |
| 0.25–0.27                          | 5         |                                | +                           | +                           |                              |                  |                   |                   |                   |
| 0.29–0.30                          | 6         |                                |                             | +                           | +                            | +                |                   |                   |                   |
| 0.31–0.32                          | 7         |                                | +                           | +                           | +                            |                  |                   |                   | +                 |
| 0.34–0.36                          | 8         |                                |                             | +                           | +                            | +                | +                 |                   |                   |
| 0.37–0.39                          | 9         | +                              | +                           |                             |                              |                  |                   |                   | +                 |
| 0.40–0.41                          | 10        |                                |                             | +                           | +                            | +                | +                 | +                 |                   |
| 0.42–0.44                          | 11        | +                              | +                           |                             | +                            | +                |                   |                   |                   |
| 0.45–0.47                          | 12        |                                |                             |                             |                              |                  | +                 | +                 |                   |
| 0.48–0.49                          | 13        | +                              |                             |                             |                              |                  |                   |                   |                   |
| 0.51–0.52                          | 14        |                                |                             |                             |                              |                  |                   | +                 |                   |
| 0.53–0.55                          | 15        | +                              | +                           |                             |                              |                  |                   | +                 | +                 |
| 0.56–0.58                          | 16        |                                |                             |                             |                              | +                | +                 |                   |                   |
| 0.60                               | 17        |                                |                             |                             |                              |                  |                   |                   | +                 |
| 0.63–0.65                          | 18        |                                |                             | +                           | +                            | +                | +                 | +                 |                   |
| 0.66–0.69                          | 19        | +                              | +                           |                             |                              |                  |                   | +                 |                   |
| 0.71–0.73                          | 20        |                                |                             | +                           | +                            | +                |                   |                   | +                 |
| 0.74–0.76                          | 21        | +                              |                             |                             |                              |                  | +                 |                   | +                 |
| 0.77–0.79                          | 22        | +                              | +                           |                             |                              | +                |                   |                   |                   |
| 0.82–0.84                          | 23        | +                              |                             |                             |                              |                  |                   | +                 | +                 |
| Число изоформ                      |           | 9                              | 8                           | 10                          | 10                           | 9                | 7                 | 9                 | 9                 |
| <b>Глубокий покой (октябрь)</b>    |           |                                |                             |                             |                              |                  |                   |                   |                   |
| 0.03–0.05                          | 1         | +                              | +                           |                             |                              | +                | +                 | +                 |                   |
| 0.07–0.09                          | 2         | +                              |                             | +                           | +                            |                  |                   |                   | +                 |
| 0.11                               | 3         |                                |                             |                             |                              |                  |                   | +                 |                   |
| 0.14–0.15                          | 4         |                                |                             | +                           | +                            |                  |                   |                   |                   |
| 0.33–0.35                          | 5         |                                | +                           | +                           |                              | +                | +                 |                   | +                 |
| 0.37–0.38                          | 6         | +                              | +                           |                             |                              |                  | +                 |                   | +                 |
| 0.39                               | 7         |                                |                             |                             |                              |                  |                   |                   | +                 |
| 0.40–0.42                          | 8         | +                              | +                           | +                           | +                            | +                | +                 | +                 | +                 |
| 0.43–0.45                          | 9         | +                              |                             | +                           | +                            |                  |                   |                   | +                 |
| 0.46                               | 10        | +                              |                             |                             |                              |                  | +                 |                   |                   |
| 0.47–0.49                          | 11        | +                              |                             | +                           | +                            | +                |                   | +                 | +                 |
| 0.51–0.52                          | 12        | +                              | +                           | +                           |                              |                  |                   |                   |                   |
| 0.53–0.54                          | 13        | +                              |                             | +                           | +                            | +                |                   |                   |                   |
| 0.55–0.56                          | 14        | +                              |                             |                             |                              |                  |                   | +                 |                   |
| 0.58–0.59                          | 15        | +                              | +                           |                             |                              |                  |                   | +                 |                   |
| 0.63                               | 16        |                                |                             |                             |                              | +                |                   |                   |                   |
| 0.68–0.69                          | 17        | +                              |                             | +                           | +                            |                  |                   |                   |                   |
| 0.70–0.71                          | 18        |                                |                             |                             |                              | +                |                   | +                 |                   |
| 0.76–0.78                          | 19        | +                              | +                           |                             |                              | +                | +                 |                   |                   |
| 0.80–0.81                          | 20        |                                |                             | +                           | +                            |                  |                   |                   | +                 |
| 0.82–0.84                          | 21        | +                              | +                           |                             |                              |                  | +                 | +                 | +                 |
| Число изоформ                      |           | 14                             | 8                           | 10                          | 8                            | 8                | 7                 | 8                 | 9                 |
| <b>Вынужденный покой (февраль)</b> |           |                                |                             |                             |                              |                  |                   |                   |                   |
| 0.04–0.05                          | 1         |                                | +                           |                             |                              |                  |                   |                   | +                 |
| 0.08–0.10                          | 2         | +                              | +                           | +                           | +                            | +                |                   | +                 |                   |
| 0.14–0.15                          | 3         |                                | +                           | +                           | +                            |                  |                   |                   |                   |
| 0.17–0.18                          | 4         | +                              |                             |                             | +                            |                  |                   | +                 | +                 |
| 0.21–0.22                          | 5         | +                              |                             | +                           | +                            |                  |                   | +                 |                   |
| 0.24                               | 6         | +                              | +                           |                             |                              |                  |                   |                   | +                 |
| 0.26–0.27                          | 7         |                                |                             |                             | +                            | +                | +                 |                   |                   |
| 0.29–0.30                          | 8         | +                              | +                           | +                           |                              |                  |                   |                   | +                 |

| ОЭП фракций   | № фракций | <i>Picea abies</i> (19 лет) | <i>P. abies</i> (50 лет) | <i>P. pungens f. glauca</i> | <i>P. pungens f. viridis</i> | <i>P. glauca</i> | <i>P. mariana</i> | <i>P. omarica</i> | <i>P. obovata</i> |
|---------------|-----------|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 0.31–0.32     | 9         |                             |                          | +                           | +                            |                  |                   |                   |                   |
| 0.33–0.35     | 10        |                             | +                        |                             |                              | +                | +                 | +                 | +                 |
| 0.37–0.39     | 11        | +                           |                          | +                           | +                            |                  | +                 |                   | +                 |
| 0.40–0.42     | 12        | +                           | +                        |                             |                              | +                |                   |                   |                   |
| 0.44–0.46     | 13        |                             |                          |                             |                              |                  | +                 | +                 | +                 |
| 0.47–0.49     | 14        | +                           |                          | +                           | +                            |                  |                   |                   |                   |
| 0.50–0.52     | 15        |                             | +                        |                             |                              | +                | +                 | +                 | +                 |
| 0.57–0.60     | 16        |                             |                          | +                           | +                            | +                | +                 | +                 |                   |
| 0.61–0.63     | 17        | +                           | +                        |                             |                              | +                |                   |                   | +                 |
| 0.64–0.66     | 18        |                             | +                        | +                           | +                            |                  | +                 |                   |                   |
| 0.69          | 19        |                             |                          |                             |                              | +                |                   |                   |                   |
| 0.71–0.73     | 20        | +                           | +                        |                             |                              |                  |                   | +                 | +                 |
| 0.75          | 21        |                             |                          |                             |                              |                  | +                 |                   |                   |
| Число фракций |           | 10                          | 11                       | 9                           | 10                           | 8                | 8                 | 8                 | 10                |

Таблица 3. Динамика некоторых показателей содержания пигментов в хвое различных видов *Picea* (1992–93 гг.)

| Вид                          | Отношение хлорофиллов "а" к "б" |       |       |      |      | Отношение суммы хлорофиллов к сумме каротиноидов |       |       |      |      |
|------------------------------|---------------------------------|-------|-------|------|------|--|-------|-------|------|------|
|                              | 13 V                            | 15 VI | 21 IX | 19 X | 4 II | 13 V   | 15 VI | 21 IX | 19 X | 4 II |
| <i>Picea abies</i> (19 лет)  | 3.27                            | 2.98  | 2.94  | 3.11 | 2.00 | 2.44   | 2.71  | 3.24  | 3.24 | 3.00 |
| <i>P. abies</i> (50 лет)     | 3.25                            | 2.74  | 3.11  | 3.19 | 2.29 | 2.46   | 2.75  | 3.00  | 3.14 | 3.29 |
| <i>P. pungens f. glauca</i>  | 2.44                            | 2.72  | 2.31  | 2.53 | 2.33 | 2.64   | 2.85  | 3.42  | 3.33 | 3.00 |
| <i>P. pungens f. viridis</i> | 3.05                            | 2.66  | 2.78  | 2.66 | 2.22 | 2.76   | 2.72  | 3.07  | 3.15 | 3.45 |
| <i>P. glauca</i>             | 2.79                            | 2.94  | 2.70  | 3.09 | 2.25 | 2.72   | 2.71  | 3.15  | 2.79 | 3.59 |
| <i>P. omarica</i>            | 2.74                            | 2.57  | 2.92  | 2.72 | 2.40 | 2.38   | 2.53  | 3.17  | 3.13 | 3.28 |
| <i>P. mariana</i>            | 2.88                            | 2.86  | 2.60  | 2.77 | 2.30 | 2.28   | 2.54  | 3.04  | 3.14 | 3.50 |
| <i>P. obovata</i>            | 2.61                            | 3.10  | 2.63  | 2.50 | 1.80 | 2.67   | 2.64  | 3.12  | 2.84 | 2.92 |

### Заключение

Исследования проводились в Ботаническом саду Петрозаводского государственного университета (подзона средней тайги). Объектами служили 1 аборигенный [ель европейская *P. abies* (L.) Karst.] и 5 интродуцированных видов (ель колючая ф. голубая *P. pungens* Engelm. f. *glauca* Regel., ель колючая ф. зеленая *P. pungens* Engelm. f. *viridis* Regel., ель голубая *P. glauca* (Mill.) Britt., ель сербская ель *P. omarica* (Panc) Purk., ель черная *P. mariana* Britt., ель сибирская *P. obovata* Ledeb.) *Picea*.

Установлена высокая изменчивость спектра изоферментов пероксидазы в хвое видов *Picea* в годичном цикле. Отмечены молекулярные формы пероксидазы, которые характерны для периода роста или покоя. У некоторых видов *Picea* обнаружены изоферменты, появляющиеся только во время глубокого покоя. Очевидно, что различные изоформы пероксидазы проявляют свою активность в разных условиях окружающей среды, а значит в разные фазы развития дерева: в период вегетативного роста или в период покоя.

У местного вида и некоторых интродуцентов количество изоферментов пероксидазы в период покоя выше, чем во время вегетации. У *P. omarica*, *P. mariana* и *P. obovata* при переходе от роста к покою

число фракций в спектре изоформ не увеличивается, а происходит лишь их качественное изменение. Таким образом, у аборигенного и интродуцированных видов рода *Picea* в процессе приспособления к перенесению неблагоприятных условий зимы наблюдается повышение гетерогенности спектра изоферментов пероксидазы в хвое, появление молекулярных форм фермента, характерных для периода покоя. Перестройка изоферментной системы обеспечивает устойчивость растений к воздействию внешних факторов и регуляцию гомеостаза.

Содержание хлорофилла и каротиноидов в хвое изучаемых видов подвержено значительным сезонным изменениям и во многом определяется их биологическими особенностями. Концентрация пигментов закономерно возрастает к концу вегетационного периода, а зимой – несколько уменьшается. Общее количество пигментов в хвое аборигенного и интродуцированных видов сравнительно одинаково, что свидетельствует о сходной скорости формирования их фонда. К наступлению покоя растет соотношение суммы хлорофиллов к сумме каротиноидов и достигает примерно одинакового уровня у всех видов *Picea*.

Адаптация растений к экстремальным воздействиям среды – сложный комплекс процессов, координи-

нируемых системой саморегуляции организма. Интродуценты, попадая в новые климатические условия, приспосабливаются к окружающей среде с помощью тех же механизмов, которые присущи родственным им оборигонам. Так, интродуцированные в Карелию виды *Picea* адаптируются к перенесению низких температур зимы теми же путями, что и местный вид, аналогичными физиологическими перестройками, к которым относятся и изменение изоферментного состава пероксидазы, и динамика содержания пигментов в хвое, и соотношение хлорофиллов и каротиноидов. Потенциальные возможности растения по устойчивости к неблагоприятным факторам среды реализуются под действием экстремального фактора достаточной напряженности, не превышающей порогового значения.

### Литература

- Адреева В. А. Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений. М., 1988. 128 с.
- Базилевская Н. А. Теория и методы интродукции растений. М., 1964. 130 с.
- Буданцев Л. Ю. Биологическое разнообразие растительного мира, разные аспекты - одна задача // Биологическое разнообразие. Интродукция растений. Матер. 2-й Междунар. науч. конф. (20-23 апреля 1999 г.). СПб., 1999. С. 12-14.
- Воронков Л. А. О биологической роли и механизме действия пероксидазы // Сельскохозяйственная биология. 1967. Т. 2. вып. 1. С. 78-84.
- Ворошилов В. Н. Ритм развития у растений. М., 1960. 312 с.
- Встовская Т. Н. Интродукция древесных растений дальнего Востока и Западной Сибири. Новосибирск, 1983. 196 с.
- Гордей В. Н., Олюнина Л. Н., Лялина И. К. Электрофоретические исследования пероксидазы проростков пшеницы в связи с условиями питания // Регуляция ферментативной активности у растений. Горький, 1988. С. 15-20.
- Кавац Я. Е. Изоформы пероксидазы хвои в популяциях ели обыкновенной // Отбор лесных древесных растений. Рига, 1978. С. 69-82.
- Кавац Я. Е., Роне В. М. Изоэнзимы хвои в популяциях ели обыкновенной // Генетические исследования древесных в Латв. ССР. Рига, 1975. С. 58-63.
- Калуцкий К. К., Болотов Н. А. Биоэкологические особенности лесной интродукции // Лесная интродукция. Воронеж, 1983. С.4-14.
- Кищенко И. Т. Рост и развитие аборигенных и интродуцированных видов семейства *Pinaceae* Lindl. в условиях Карелии. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2000. 214 с.
- Климаченко А. Ф. Особенности роста и зимостойкость интродуцированных дальневосточных древесных пород в условиях Западной Сибири // Физиологические механизмы адаптации и устойчивости у растений. Ч. 1. Новосибирск, 1972. С. 163-184.
- Ларионова А. Я. Динамика электрофоретических спектров хвои лиственницы // Изв. Сиб. Отд. АН СССР. Сер. биол. Наук. 1979. № 10/2. С. 97-100.
- Лимарь Р. С., Сахарова О. В. Быстрый спектрофотометрический метод определения пигментов листьев // Методы комплексного изучения фотосинтеза. Л.; ВАСХНИЛ; Всес. НИИ растениеводства им Н. И. Вавилова. 1973. Вып. 2. С. 260-267.
- Мамаев С. А., Махиев А. К. Проблемы биологического разнообразия и его поддержания в лесных экосистемах // Лесоведение. 1996. № 5. С. 3-10.
- Мауэр Г. Диск-электрофорез. Теория и практика электрофореза в полиакриламидном геле. М.; Мир, 1971. 247 с.
- Негру П. В., Медведева Т. Н., Кожокару В. А., Михайлов М. В. Эколого-физиологические механизмы зимостойкости винограда. Кишинев, 1988. 172 с.
- Новицкая Ю. Е. Физиологические и биохимические процессы у ели в елово-лиственных насаждениях Севера // Вопросы селекции, семеноводства и физиологии древесных пород Севера. Петрозаводск: Кар. книжн. изд-во, 1967. С. 140-166.
- Новицкая Ю. Е. Особенности физиолого-биохимических процессов в хвое и побегах ели в условиях Севера. Л., 1971. 117 с.
- Озолина И. А., Мочалкин А. И. Роль пигментов в защитно-приспособительных реакциях растений // Изв. АН СССР. Сер. биол., 1972. № 1. С. 96-102.
- Окунцов М. М., Аксенова О. Ф. Особенности поведения дыхательной системы при закаливании растений // Физиологическая устойчивость растений. М., 1960. С. 38-43.
- Осницкая Л. К. О роли каротиноидов в фотосинтезе пурпурных серных бактерий // Изв. АН СССР. Сер. биол., 1965. № 1. С. 58-65.
- Петренко С. Г., Берштейн Б. И., Волкова Н. В., Оканенко А. С., Островская Л. К., Рейнгард Т. А., Семенюк И. И., Ясников А. А. О механизме участия каротиноидов в образовании АТФ в хлоропластах // Физиология и биохимия культурных растений. 1970. Т. 2. Вып. 2. С. 137-141.
- Петухова И. П. Эколого-физиологические основы интродукции древесных растений. М., 1981. 124 с.
- Плотникова Л. С. Научные основы интродукции и охраны древесных растений флоры СССР: Автореф. дисс... докт. биол. наук. М., 1983. 52 с.
- Полозова Л. Я. Исследование изоэнзимных спектров как метод изучения структуры популяций древесных пород // Научные основы селекции хвойных древесных пород. М., 1978. С. 99-114.
- Редькин П. С. Изоферменты как элементы регуляторных систем гомеостаза // Успехи современной биологии. 1974. Т. 78. Вып. 1(4). С. 42-56.
- Савич И. М., Перуанский Ю. В. Биохимическое обеспечение диагностики криустойчивости зерновых // Физиология и биохимия культурных растений. 1990. Т. 22. № 1. С. 13-19.
- Садвакасова Г. Г., Кунаева Р. М. Некоторые физико-химические и биологические свойства пероксидазы растений // Физиология и биохимия культурных растений. 1987. Т. 19. № 2. С. 107-119.
- Сафонов В. И., Сафонова М. П. Анализ белков растений методом вертикального микроэлектрофореза

- за в полиакриламидном геле // Физиология растений, 1969. Т. 16. № 2. С. 350-356.
- Сафонов В. И., Сафонова М. П. Исследование белков и ферментов растений методом микроэлектрофореза в полиакриламидном геле // Биохимические методы в физиологии растений. М., 1971. С. 113-136.
- Семкина Л. А. Изменчивость изоферментных спектров пероксидазы у сосны обыкновенной. Свердловск, 1985. 69 с.
- Сергеева К. А. Физиологические и биохимические основы зимостойкости древесных растений. М., 1971. 174 с.
- Сидоров В. П., Мухамедишин К. Д., Миронцева Н. А., Дьяков В. Л. Изоферментный спектр пероксидазы сосны обыкновенной на ранних этапах онтогенеза // Лесоведение, 1989. № 2. С. 85-88.
- Трунова Т. И. Физиолого-биохимические основы адаптации и морозостойкости растений // Второй съезд ВОФР. Тез. докл. М., 1990. С. 91.
- Туманов И. И. Физиология закаливания и морозостойкости растений. М., 1979. 352 с.
- Ходасевич Э. В. Фотосинтетический аппарат хвойных. Минск: Наука и техника, 1982. 199 с.

**DYNAMICS OF PEROXIDASE ISOENZYMES AND PIGMENTS IN NEEDLES OF PICEA DIETER. SPECIES INTRODUCED IN KARELIA**

**Shulykovskaya T. A., Ilinova M. K., Kischenko I. T., Potapova M. N.**

*Investigation was carried out in the Botanical gardens of Petrozavodsk Universiti (the middle taiga subzone). Annual dynamics of peroxidase isoenzymes and pigments in needles of first year of aboriginal and 6 introduced species of genus Picea Dieter. were studied.*

*From 15 to 20 different peroxidase isoenzymes were found in needles of tree species. It was determined that peroxidase isoenzymes have high annual variation spectrum. The content of chlorophyll and carotenoids in needles connects with significant seasonal variations. It is determined mainly by biological features of species.*

*Department of botany and Botanic garden of Petrozavodsk university & Karelian scientific centre of RAS, Petrozavodsk, Russia*