

УДК 574.24

## СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА СУММАРНЫХ БЕЛКОВ И ДЕГИДРИНОВ В ПОЧКАХ БЕРЕЗЫ ПЛОСКОЛИСТНОЙ, РАСТУЩЕЙ В КРИОЛИТОЗОНЕ

© 2012 А.Г. Пономарев, Т.Д. Татарина, А.А. Перк, И.В. Васильева, В.В. Бубякина

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск

Поступила в редакцию 11.05.2012

Впервые обнаружены низкомолекулярные (15 и 17 кДа) и среднемолекулярные (66 и 69 кДа) дегидрины со стабильно высоким содержанием во время покоя в почках березы плосколистной (*Betula pendula* var. *platyphylla*). Предполагается их непосредственное участие в формировании морозоустойчивости растений к экстремально низким зимним температурам в условиях резко континентального климата криолитозоны.

Ключевые слова: *Betula pendula* var. *platyphylla*, Центральная Якутия, сезонная динамика, почки, суммарные белки, дегидрины

Береза плосколистная (*Betula pendula* var. *platyphylla*) является основной лесообразующей лиственной породой в Центральной Якутии. Как виду, участвующему в формировании лесного покрова, стабилизирующего многолетнемерзлые грунты (криолитозона), ей отводится важная природоохранная роль. Регион характеризуется резко континентальным климатом с максимальными годовыми перепадами температур более 100°C. В этих условиях адаптационный потенциал березы не уступает таковому лиственницы Каяндера (*Larix cajanderi* Mayr) – самому морозоустойчивому в мире древесному виду, доминанту восточно-сибирской тайги [3]. Степень морозоустойчивости подвержена сезонным изменениям в зависимости от колебаний температуры, эти процессы называются сезонными холодовым закаливанием (акклимация) и раззакаливанием (деакклимация). Способность березы к формированию уровня морозоустойчивости, позволяющего пережить экстремальный холод, определяется, наряду с другими причинами, экспрессией генов, кодирующих *Cor* (cold-regulated) – полипептиды. К последним относятся водорастворимые белки-дегидрины, индуцируемые обезвоживанием, относящиеся ко II группе суперсемейства LEA-белков (late embryogenesis abundant) [6]. Дегидрины задействованы в стабилизации макромолекул и мембран.

**Цель работы:** выявление закономерностей сезонных изменений, состава и содержания суммарных белков, в том числе основных стрессовых

белков – дегидринов, ассоциированных с формированием морозоустойчивости почек березы плосколистной, произрастающей в криолитозоне.

**Объекты и методы.** Сбор материала проводили в 2009 г. на территории Ботанического сада Института биологических проблем криолитозоны СО РАН (62°15' с.ш., 129°37' в.д.). Объектом исследования явилась береза плосколистная (*Betula pendula* var. *platyphylla*). Отбор проб почек с 6 экземпляров берез проводили ежемесячно, кроме июня, когда они еще не сформированы. Температурные показатели в год наблюдений были в пределах среднееголетней нормы для Центральной Якутии (табл.). Для выделения суммарных белков из почек березы использовали методику [5]. Белковое содержание определяли методом Лоури с помощью набора (Bio-Rad, США). Электрофорез проводили в 13% SDS-PAGE [7]. На треки наносили равные количества белка (15 мкг). Иммуноблоттинг проводили в соответствии с методикой [9]. На рисунках приведены данные для характерного экземпляра березы (Ya4). Деакклимацию почек березы Ya7, находящихся в покое (середина марта), изучали в лабораторных условиях при проращивании веток при комнатной температуре (+25°C). Через определенные суточные промежутки (7, 10, 14 дней) брали образцы почек березы для изучения суммарных белков и дегидринов. Определение общего содержания воды в почках проводили после высушивания в сушильном шкафу при 105°C до постоянной массы.

**Результаты и их обсуждение.** Самое высокое содержание влаги в органах березы наблюдается в июле (табл.). С июля по август с уменьшением длины дня и температуры воздуха происходит значительное снижение содержания влаги. Одновременно в августе отмечается появление некоторых групп белков, в том числе дегидринов (рис. 1).

Пономарев Анатолий Гаврильевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник. E-mail: anaropotarev@yandex.ru

Татарина Татьяна Дмитриевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Перк Александр Александрович, научный сотрудник. E-mail: aaperk@mail.ru

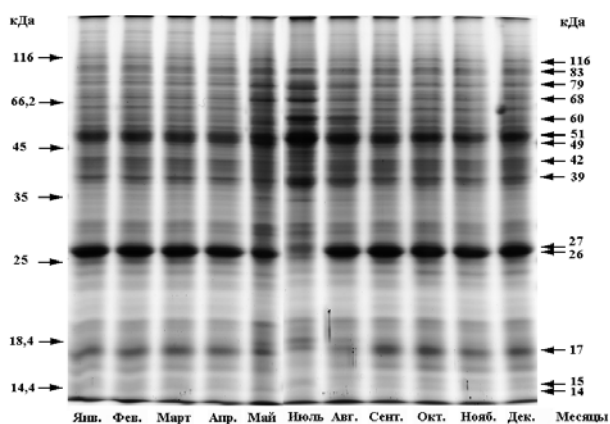
Васильева Ирина Вениаминовна, аспирантка

Бубякина Виктория Витальевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

**Таблица.** Средние и минимальные температуры воздуха, длина дня и содержание влаги в почках березы плосколистной во время отбора проб (г. Якутск, 2009 г.)

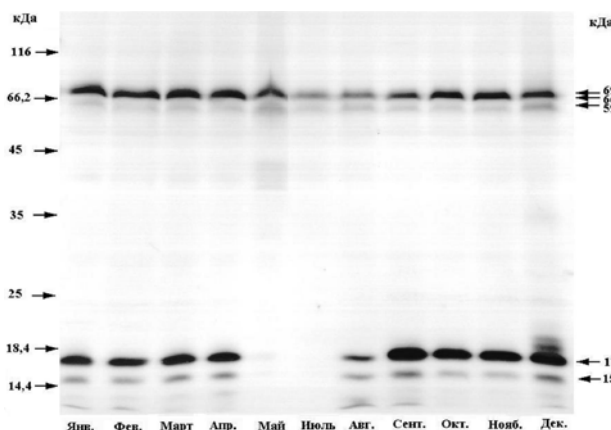
Дата отбора проб					
20.01	10.02	16.03	15.04	26.05	-
27.07	27.08	21.09	12.10	19.11	09.12
темпер. воздуха перед отбором проб, сред./мин					
$\frac{-34,0}{-36,0}$	$\frac{-41,5}{-43,5}$	$\frac{-14,5}{-23,5}$	$\frac{-13,5}{-18,0}$	$\frac{12,5}{6,5}$	--
$\frac{20,0}{12,5}$	$\frac{8,5}{5,0}$	$\frac{3,5}{0,0}$	$\frac{1,5}{0,0}$	$\frac{-30,5}{-32,5}$	$\frac{-29,0}{-32,5}$
длина дня					
6 ч. 30 м.	8ч. 26 м.	11ч. 48 м.	14ч. 47 м.	18ч. 37 м	-
17ч. 48 м.	14ч. 51 м.	12ч. 24 м.	10ч. 20 м.	6 ч. 40 м.	5 ч. 21 м.
содержание влаги в побегах, %					
39,3±0,6	38,8±0,7	39,4±1,3	39,2±0,3	45,9±0,3	-
59,1±0,4	45,9±0,3	44,0±0,3	44,2±0,1	42,7±0,3	41,2±0,3

К основным белкам в суммарном спектре во время покоя относятся полипептиды с молекулярными массами 17, 26, 27 кДа. Содержание этих белков резко падает весной (май) после значительного повышения среднесуточных температур. Во время вегетации к мажорным белкам можно отнести полипептиды с молекулярными массами 39, 51 и 68 кДа. Хотя функции мажорных белков в период покоя не известны, особенности их сезонной динамики позволяют предположить, что среди них могут быть запасующие и иные полипептиды, ассоциированные с перезимовкой.



**Рис. 1.** Спектр суммарных белков почек *B. pendula var. platyphylla*. Слева – молекулярные массы маркеров, справа – молекулярные массы полипептидов с сезонной динамикой

Среди суммарных белков выявлены полипептиды, иммунохимически родственные дегидринам. Мажорные дегидрины группируются в низко- и среднемoleкулярных областях (рис. 2). Дегидрины с молекулярными массами 66 и 69 кДа наблюдались круглогодично. Их количество заметно падало в летний период. Наибольшим сезонным изменениям подвержены низкомолекулярные дегидрины (15, 17 кДа), которые обнаруживались во время покоя деревьев. Они уменьшались в мае, когда температура увеличивалась. Эти белки не обнаруживались летом и вновь появлялись в августе.



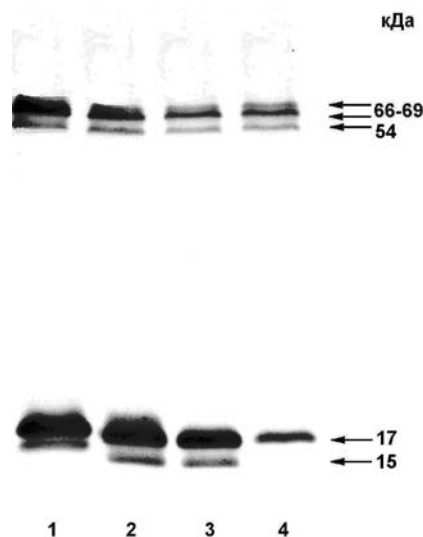
**Рис. 2.** Спектр дегидринов почек березы плосколистной *B. pendula var. platyphylla*. Слева указаны молекулярные массы маркеров, справа – молекулярные массы дегидринов

Для подтверждения ассоциированности дегидринов с процессом формирования морозоустойчивости были проведены эксперименты по искусственной деакклимации. Ветки берез, помещенные в сосуды с водой в состоянии вынужденного покоя, распустились за 14 суток. Количество 17 кДа-дегидрина на 7 сутки упало на 10% от контрольного и на 14 сутки его потеря составила 90% (рис. 3).

Значительный синтез дегидринов, вероятно, связан со снижением содержания воды в растениях и ростом морозоустойчивости в период подготовки к зиме, что подтверждается данными других исследователей [10]. Уровень дегидринов у березы плосколистной является самым высоким в период покоя, когда морозоустойчивость достигает максимума. Об этом свидетельствует также низкая тканевая проницаемость, фиксируемая с помощью электрофизиологических методов [1, 2].

В период возобновления роста побегов весной (май) происходит деакклимация, которая сопровождается резким снижением низкомолекулярных дегидринов и морозоустойчивости. Самый низкий уровень дегидринов наблюдается в период вегетации. Другие исследователи также отмечали связь между накоплением дегидринов у древесных

растений умеренных зон и уровнем их устойчивости к холоду [10]. Количество 17, 66 и 69 кДа дегидринов в период с октября по апрель оставалось без заметных колебаний на высоком уровне. Насколько нам известно, идентифицированные в данной работе низко- и среднемoleкулярные дегидрины ранее у берез не описывались. Вместе с тем, сходные по молекулярным массам дегидрины, индицируемые холодом, найдены у *Vaccinium corymbosum* (14 и 65 кДа) [8] и *Citrus unshiu* (19 кДа) [4].



**Рис. 3.** Изменение уровня дегидринов при лабораторной деакклимации (+25°C). Справа – молекулярные массы дегидринов. 1 – контроль, 2-7 дней, 3-10 дней, 4 – 14 дней

**Выводы:** впервые обнаружены низкомолекулярные (15 и 17 кДа) и среднемoleкулярные (66 и 69 кДа) дегидрины со стабильно высоким содержанием во время покоя в почках березы плосколистной. Предполагается их непосредственное участие в формировании морозоустойчивости растений к экстремально низким зимним температурам

в условиях резко континентального климата криолитозоны.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №09-04-98556-р\_восток\_a.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Перк, А.А. Физиолого-биохимические характеристики *Betula platyphylla* в условиях Центральной и Южной Якутии / А.А. Перк, А.Г. Пономарев, Т.Д. Татаринова, В.В. Бубякина // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2011. Т. 13. №1 (4). С. 874-877.
2. Пономарев, А.Г. Физиолого-биохимические характеристики *Betula platyphylla* в связи с условиями произрастания на многолетней мерзлоте / А.Г. Пономарев, Т.Д. Татаринова, А.А. Перк и др. // Вестник Московского государственного университета леса – Лесной вестник. 2009. № 2. С. 12-16.
3. Уткин, А.И. Леса Республики Саха (Якутия) – феномен таежного пояса Северной Евразии // Хвойные бореальные зоны. 2006. № 3. С. 7-14.
4. Hara, M. Characterization and cryoprotective activity of cold-responsive dehydrin from *Citrus unshiu* / M. Hara, S. Terashima, T. Kuboi // J. Plant Physiology. 2001. Vol. 158. P. 1333-1339.
5. Korotaeva, N.E. Variations in the content of stress proteins in the needles of common pine (*Pinus sylvestris* L.) within an annual cycle / N.E. Korotaeva, M.V. Oskorbina, L.D. Kopytova et al. // J. Forestry Research. 2011. Doi 10.1007/s10310-011-0260-y.
6. Kosova, K. Role of dehydrins in plant stress response / K. Kosova, I.T. Prašil, P. Vitamvas // Handbook of plant and crop stress. – Tucson: CRC Press, 2010. P. 239-285.
7. Laemmli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970. Vol. 227. P. 680-685.
8. Muthalif, M.M. Identification of dehydrin-like proteins responsive to chilling in floral buds of blueberry (*Vaccinium*, section *Cyanococcus*) / M.M. Muthalif, L.J. Rowland // Plant Physiology. 1994. Vol. 104. P. 1439-1447.
9. Timmons, T.M. Protein blotting and immunodetection / T.M. Timmons, B.S. Dunbar // Methods enzymology. 1990. Vol. 182. P. 679-701.
10. Welling, A. Molecular control of cold acclimation in trees / A. Welling, E.T. Palva // Physiologia Plantarum. 2006. Vol. 127. P. 167-181.

## SEASONAL DYNAMICS OF INTEGRAL PROTEINS AND DEHYDRINS IN *BETULA PENDULA* VAR. *PLATYPHYLLA* BUDS GROWING IN CRYOLITOZONE

© 2012 A.G. Ponomarev, T.D. Tatarinov, A.A. Perk, I.V. Vasilyeva, V.V. Bubyakina  
Institute of Biological Problems of Cryolitozone SB RAS, Yakutsk

For the first time are found low-molecular (15 and 17 kDa) and middlemolecular (66 and 69 kDa) dehydrins with stably high contents during rest in *Betula pendula* var. *platyphylla* buds. Their immediate participation in formation of plants frost resistance to extremely low winter temperatures in the conditions of sharply continental cryolitozone climate is supposed.

Key words: *Betula pendula* var. *platyphylla*, Central Yakutia, seasonal dynamics, buds, integral proteins, dehydrins

Anatoliy Ponomaryov, Candidate of Biology, Senior Research Fellow. E-mail: anaponomarev@yandex.ru; Tatiana Tatarinova, Candidate of Biology, Senior Research Fellow; Alexander Petk, Research Fellow. E-mail: aaperk@mail.ru; Irina Vasilyeva, Post-graduate Student; Viktoriya Bubyakina, Candidate of Biology, Senior Research Fellow