

УДК 581.19:635.9(2)

**БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ  
СЕМЕЙСТВА ВЕРЕСКОВЫХ (ERICACEAE D.C.)  
В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОГО ЧЕРНОЗЕМЬЯ**

<sup>1</sup>Землянухина О.А., <sup>2</sup>Моисеева Е.В., <sup>2</sup>Баранова Т.В., <sup>2</sup>Калаев В.Н.,  
<sup>1</sup>Карпеченко К.А., <sup>1</sup>Веprinцев В.Н.

<sup>1</sup>ФГУП «Научно-исследовательский институт лесной генетики и селекции»,  
Воронеж, e-mail: oz54@mail.ru;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет»,  
Воронеж, e-mail: Dr\_Huixs@mail.ru

Были проведены исследования биохимических свойств некоторых представителей семейства (Ericaceae DC): *Rhododendron luteum* Sweet, *Rh. japonicum* (Gray) Suringar, *Rh. ledebourii* Pojark., *Rh. schlippenbachii* Maxim., *Erica tetralix* L. Изучена ферментативная активность изоцитратдегидрогеназы, изоцитратлиазы, NADH - дегидрогеназы, пероксидазы. Получены данные об отсутствии активности малик-фермента и низкой активности изоцитратлиазы у изучаемых объектов. Выявлены широкие пределы активности NADH-дегидрогеназы у разных представителей семейства вересковых. Сделаны предварительные выводы о том, что этот фермент у изучаемой группы растений берет на себя функцию отсутствующей пероксидазы и позволяет растениям адаптироваться при интродукции в условиях Центрального Черноземья. Результаты исследований свидетельствуют о стабилизации биохимических показателей к 3-7-летнему возрасту у разных видов рододендронов и об увеличении адаптации растений.

**Ключевые слова:** биохимическая активность, ферментативная активность, семейство вересковые (Ericaceae D.C.), Центральное Черноземье

**BIOCHEMICAL PLANT CHARACTERISTICS OF FAMILY (ERICACEAE D.C.)  
IN CONDITIONS OF BLACK SOIL REGION**

<sup>1</sup>Zemlyanukhina O.A., <sup>2</sup>Moiseeva E.V., <sup>2</sup>Baranova T.V., <sup>2</sup>Kalaev V.N.,  
<sup>1</sup>Karpechenko K.A., <sup>1</sup>Veprintsev V.N.

<sup>1</sup>Research Institute of Forest Genetics and Breeding, Voronezh, Russia e-mail: oz54@mail.ru;

<sup>2</sup>Voronezh State University, Voronezh, e-mail: Dr\_Huixs@mail.ru

A study was made about analysis of biochemical characteristics some representatives of family (Ericaceae D.C.): *Rhododendron luteum* Sweet, *Rh. japonicum* (Gray) Suringar, *Rh. ledebourii* Pojark., *Rh. schlippenbachii* Maxim., *Erica tetralix* L. The enzymatic activity of isocitrate dehydrogenase, isocitrate lyase, NADH – dehydrogenase, peroxidase have been investigated. According to enzymatic activity all studied species have been divided for two groups. The first group has included *Rhododendron luteum* and *Rh. japonicum*. It has been noted the rise of the enzymatic activity in ontogenesis of these species. The activity of second group has been minimal as in *Rh. ledebourii* Pojark., *Rh. schlippenbachii* Maxim. or a zero level as in *Erica tetralix* L. The adaptive processes bases on the activity of NADH – dehydrogenase in comparison of the other plants, where peroxidase is the stress enzyme. species herbal and species trees. The enzymatic activity of isocitrate lyase is increased according to the age of *Rh. ledebourii*. This characteristic has been decreased in *Rh. schlippenbachii* and in 3-, 5-, 30-year examples of *Rh. luteum* and *Rh. japonicum* has been in the same level.

**Keywords:** biochemical characteristics, the enzymatic activity, family *Ericaceae*, Black Soil Region

Роды рододендрон (*Rhododendron* L.) и эрика (*Erica* L.) относятся к семейству вересковые (*Ericaceae* D.C.), куда входят более 1000 видов и около 12000 сортов [1]. По своим свойствам рододендроны являются одними из наиболее декоративных кустарников во всем мире. По срокам цветения рододендроны можно разделить на несколько групп: раннецветущие (апрель); когда другие растения пребывают еще в состоянии начала вегетации; среднецветущие (май – начало июня), которые не менее декоративны при цветении. Вместе с тем представители этого семейства недостаточно широко введены в культуру Центрального Черноземья. Интродукция представителей семейства вересковых на базе ботанического сада им. проф. Б.М. Козо-Полянского Воронежского госуниверситета

начата еще в 70-е годы. В настоящее время на территории сада произрастают цветущие и плодоносящие 30-летние растения рододендрона желтого (*Rh. luteum* Sweet), рододендрона японского (*Rh. japonicum* (Gray) Suringar), рододендрона Ледебур (*Rh. ledebourii* Pojark.) и рододендрона Шлиппенбаха (*Rh. schlippenbachii* Maxim.). В настоящее время особенное внимание уделяется изучению онтогенеза и морфологии вересковых, но литературные данные о биохимических особенностях этой группы растений в условиях Центрального Черноземья практически отсутствуют.

В связи с этим целью работы являлось изучение биохимических показателей рододендронов в условиях культуры ботанического сада Воронежского госуниверситета.

### Материалы и методы исследования

В качестве материала для исследований использовали листья 4 видов рододендронов, а также листья эрики четырехмерной (*Erica tetralix* L.), произрастающих на территории ботанического сада Воронежского госуниверситета.

1. Рододендрон желтый. Родина: Украина, Белоруссия, Кавказ, Малая Азия. Листопадный кустарник, высотой 1–2 м. Цветки золотисто-желтые или оранжевые, по 7–12 в соцветии [2]. В условиях ботанического сада Воронежского госуниверситета цветет в середине мая начале июня, однократно. Засухоустойчив, в холодные зимы подмерзает. Изучались пять возрастов кустарника: 1-, 3-, 5-, 7- и 30-летние в культуре ботанического сада. Кроме того, однолетние растения включали экземпляры рододендрона желтого, завезенные семенами из Клагенфурта (Австрия) и Санкт-Петербурга.

2. Рододендрон японский. Родина: Япония. Листопадный кустарник, 1–2 м высотой. Цветки желтые, лососевые, ярко-красные с большим оранжевым пятном, по 6–12 в соцветии [2]. В условиях ботанического сада цветет в середине мая начале июня, однократно. Засухоустойчив, в холодные зимы подмерзает. Изучались 3 возраста растения: 1-, 7- и 30-летние.

3. Рододендрон Ледебура. Родина: Алтай, Саяны, Монголия. Полуветчнозеленый кустарник, 0,5–2 м высотой. Почка имеют по одному цветку. Цветки розово-фиолетовые [2]. В условиях ботанического сада цветет в середине-конце апреля, возможно до 4-х повторных цветений. Зимостоек, засухоустойчив. Изучались 3 возраста растения: 1-, 3- и 30-летние.

4. Рододендрон Шлиппенбаха. Родина: Дальний Восток, Китай, Корея, Япония. Листопадный кустарник, высотой 1–3 м. Цветки бледно-розовые с пурпурными крапинками, по 3–6 в соцветии [2]. В условиях ботанического сада цветет с конца апреля, однократно. Засухоустойчив, в холодные зимы подмерзает. Изучались 4 возраста растений: 1-, 3-, 7- и 30-летние. Однолетние растения включали дополнительно экземпляр, завезенный из Штутгарта (Германия);

5. Эрика четырехмерная. Родина: Северо-Западная Европа. Кустарничек 60–70 см высотой. На вершине стеблей компактные соцветия по 2–4 малиновых или белых цветков [2]. В условиях ботанического сада в вегетирующем состоянии, засухоустойчива, зимостойка. Изучались 2 возраста растений: 1-, 2-летние.

Для изучения особенностей видов рододендронов были использованы методы определения активности энзимов и изоферментный анализ в листьях растений. Определение ферментативной активности проводили по Землянухину А.А. [3] и Землянухиной О.А. [4]. Изоферментный анализ по методу Дэвиса в ПААГ [6] осуществляли, используя несколько источников [5–7]. Изучались активности и изоэтимные спектры ферментов: пероксидазы (ПО; КФ 1.11.17), глюкозо-6-Ф-дегидрогеназы (гл.-6-Ф-ДГ; КФ 1.1.1.49), изоцитратдегидрогеназы (ИДГ; КФ 1.1.1.42), малик-фермента (КФ 1.1.1.39), изоцитратлиазы (ИЦЛ; КФ 4.1.3.1), малатдегидрогеназы (МДГ; КФ 1.1.1.37), NADH-дегидрогеназы (NADH-ДГ; КФ 1.6.99.1), неспецифической 1-эстеразы (ЭСТ; КФ 3.1.1.1) [3]. Все измерения проводили в трех биологических повторностях. В таблице и на рисунках даны значения средних арифметических данных, вычисленных на основании трех измерений.

### Результаты исследований и их обсуждение

Одним из способов выявления и оценки генетического разнообразия в природе является измерение активности ферментов, поскольку белки, являясь непосредственным продуктом генной активности, наиболее адекватно отражают изменения в этой структуре. Другим способом служит изоферментный анализ с помощью электрофоретического разделения белков. Почти все животные и растительные клетки в норме аэробны и все органическое «топливо» окисляют полностью до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Говоря о дыхании, мы обычно имеем в виду его физиологический или микроскопический аспект, т.е. процесс поглощения кислорода и выделения  $\text{CO}_2$  в легких. Биохимики же и цитологи вкладывают в этот термин другой смысл: они рассматривают дыхание на микроскопическом уровне, т.е. интересуются молекулярными механизмами процессов потребления кислорода и образования  $\text{CO}_2$  в клетке.

Цикл лимонной кислоты, называемый также циклом трикарбоновых кислот или циклом Кребса, является второй стадией клеточного дыхания. На этой стадии ацетильные группы ацетил-КоА расщепляются ферментативным путем с образованием высокоэнергетических атомов водорода и высвобождением  $\text{CO}_2$ , который представляет собой конечный продукт окисления органического топлива. В цикле трикарбоновых кислот на различных регуляторных пунктах функционирует множество ферментов, изучались лишь некоторые из них. Под действием изоцитратдегидрогеназы изоцитрат дегидрируется с образованием 2-оксоглутарата и  $\text{CO}_2$ . Суммарная реакция процесса окисления выглядит так:



Этот тип фермента NADP-зависимый, встречается как в митохондриях, так и в цитозоле, что связано с регуляцией цикла.

Результаты измерения активности фермента представлены на рис. 1.

По величине активности изоцитратдегидрогеназы изучаемые виды семейства вересковые можно разделить на 2 группы: первая, куда входят рододендрон желтый и рододендрон японский, и вторая, включающая рододендрон Ледебура, рододендрон Шлиппенбаха и эрику четырехмерную. В однолетнем возрасте все виды рододендрона, кроме рододендрона Шлиппенбаха (образец №12), обнаруживают значения общей активности фермента, близкие или равные нулю. Однако у рододендронов жел-

того и японского в возрасте 5–7 лет активность фермента начинает расти, достигая максимума у первого (0,305 ФЕ/мл) и продолжающего подъем активности вплоть до 30 летнего возраста у рододендрона японского (0,231 ФЕ/мл). Активность фермента у рододендрона Ледебера и рододендрона Шлиппенбаха характеризуется низкими значениями и практически не зависит от возраста растения. Общая активность изоцитратдегидрогеназы эрики в возрасте 1–2 года близка к нулю. Проводилось исследование и других ферментов цикла трикарбоновых кислот, а именно: малик-фермента (КФ 1.1.1.39) и малакдегидрогеназы (МДГ; КФ 1.1.1.37). Малик-фермент имеет мито-

хондриальную локализацию, хотя и встречается в цитозоле. Обнаруживается обычно во всех растительных тканях, где протекают интенсивные биосинтетические и энергетические процессы, например, в листьях. Однако результаты исследований не показали видимой активности фермента ни у одного из исследованных видов. Что же касается активности малакдегидрогеназы, то ее активность наблюдается лишь в растениях эрики 2-летнего возраста (0,021 ФЕ/мл). Возможно, это объясняется тем, что концентрация пула малата в цикле трикарбоновых кислот рододендронов достаточно велика, поэтому необходимость функционирования данных ферментов отпадает.

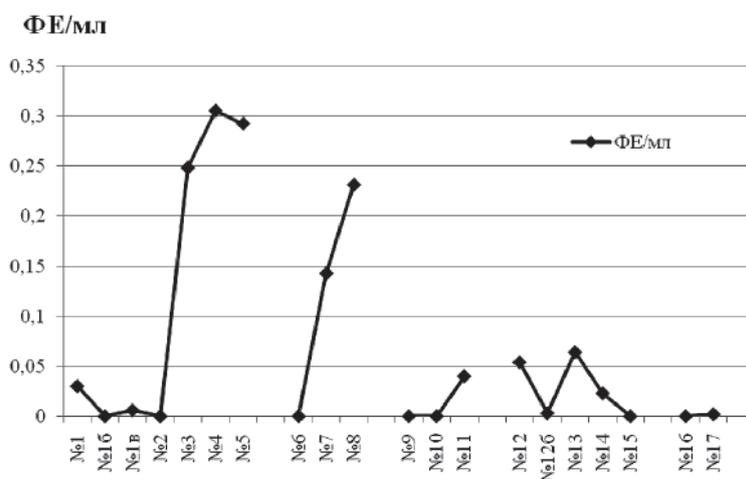


Рис. 1. Распределение общей активности ИДГ разных видов и возрастов растений рододендрона и эрики. Обозначения: № 1–5 – рододендрон желтый; № 6–8 – рододендрон японский; № 9–11 – рододендрон Ледебера; № 12–15 – рододендрон Шлиппенбаха; № 16–17 – эрика четырехмерная; № 1, 6, 9, 12, 16 – возраст 1 год; № 17 – 2 года; № 2, 10, 13 – 3 года; № 4, 7, 14 – 7 лет; № 5, 8, 11, 15 – 30 лет

У растений и некоторых микроорганизмов ацетильные группы часто служат не только высокоэнергетическим «топливом», но и источником метаболитов, из которых строятся углеродные скелеты углеводов. В таких клетках действует модификация цикла трикарбоновых кислот, называемая глиоксилатным циклом. В глиоксилатном цикле ацетил-КоА взаимодействует с оксалоацетатом, в результате чего образуется цитрат. Однако расщепление изоцитрата происходит не в обычной изоцитратдегидрогеназной реакции, как в цикле трикарбоновых кислот, а под действием фермента изоцитратлиазы с образованием сукцината и глиоксилата. Цикл распространен среди масличных растений и растений, накапливающих оксалаты. Активность изоцитратлиазы в листьях рододендронов хотя и низкая, но измеряемая, результаты представлены на рис. 2.

Хотя листья рододендронов содержат эфирные масла, о чем свидетельствует сильный запах растений, однако значительных различий в активности изоцитратлиазы не обнаружено. Возможно, низкая активность фермента связана с индивидуальными особенностями семейства, но вероятно также снижение его активности в связи с осенним сезоном. Рододендроны относятся к  $C_3$ -растениям, поэтому осенью происходит замедление фотосинтеза и, в общем, снижение процессов дыхания.

Рододендроны оказались малоинформативны и с точки зрения малоинформативных спектров. Во-первых, все растительные экстракты, кроме рододендрона Ледебера, содержали слизеподобные вещества, возможно, в связи с высоким содержанием дубильных веществ, которые препятствовали нормальному разделению макромолекул. Во-вторых, низкие значения актив-

ности измеряемых ферментов не привели к их концентрации в ходе электрофореза. Ферментативной активности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы, являющейся первым ферментом пентозо-фосфатного пути, не обнаружено. Это свидетельствует как о слабом биосинтезе жирных кислот в листьях рододендронов, так и о хорошей приспособленности растений к почвам бота-

нического сада. Измерение активности пероксидазы, широко распространенного фермента среди практически всех растений, дало отрицательный результат. Однако общая активность энзима у эрики показала значительные величины пероксидазной активности: 0,380 ФЕ/мл у однолетнего экземпляра и 0,523 ФЕ/мл у двухлетнего.

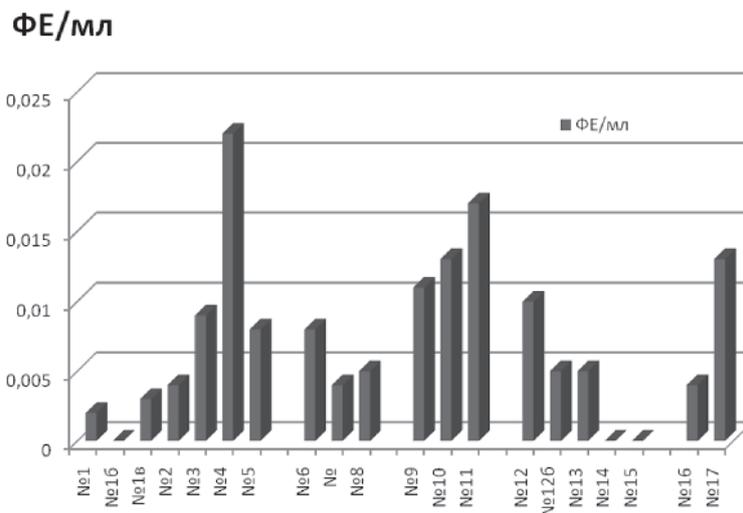


Рис. 2. Зависимость общей активности изоцитратдегидрогеназы от вида и возраста растений рода рододендрон.

Обозначения: № 1–5 – рододендрон желтый; № 6–8 – рододендрон японский; № 9–11 – рододендрон Ледебура; № 12–15 – рододендрон Шлиппенбаха; № 16–17 – эрика четырехмерная; № 1, 6, 9, 12, 16 – возраста 1 год; № 17 – 2 года; № 2, 10, 13 – 3 года; № 4, 7, 14 – 7 лет; № 5, 8, 11, 15 – 30 лет

Дыхание растений происходит с запасанием энергии (цикл трикарбонных кислот) и без него. Второй тип окисления называется свободным дыханием, происходящим в митохондриях. Он обуславливает адаптацию к изменению температурных условий, состава атмосферы, светового режима и других параметров. За функционирование свободного дыхания отвечает фермент NADH-дегидрогеназа, сосредоточенный в митохондриях. Наши исследования показали, что активность этого фермента колеблется в широких пределах у рододендронов (от 0 до 0,358 ФЕ/мл в зависимости от вида и возраста) и практически равна нулю у эрики (таблица).

Возможно, данный фермент у рододендронов берет на себя функцию отсутствующей пероксидазы и позволяет растениям адаптироваться при интродукции в условиях Центрального Черноземья. Но результаты исследований неоднозначны: у рододендрона Ледебура и рододендрона Шлиппенбаха наибольшее значение активности фермента отмечено у трехлетних экземпляров,

у рододендрона желтого – увеличение с возрастом, у рододендрона японского – снижение показателя.

Таким образом, изучение ферментативной активности изоцитратдегидрогеназы позволяет разделить исследуемые виды на две группы по изменению способа клеточного дыхания в цикле лимонной кислоты. У первой, в которую входит рододендрон желтый и рододендрон японский, в онтогенезе происходит рост активности фермента, а у второй ее уровень остается постоянным на минимальном (рододендрон Ледебура и рододендрон Шлиппенбаха) или нулевом уровне (эрика). За адаптивные процессы у рододендронов отвечает фермент NADH-дегидрогеназа, в отличие от других растений, где роль стрессорного энзима берет на себя пероксидаза. Активность изоцитратдегидрогеназы увеличивается пропорционально возрасту у рододендрона Ледебура, уменьшается – у рододендрона Шлиппенбаха, у 3-, 5-, 30-летних экземпляров рододендрона желтого и рододендрона японского остается практически на одном уров-

не. Наибольшее значение – у рододендрона желтого (7 лет). Результаты исследований свидетельствуют о стабилизации биохимических показателей к 3–7-летнему возрасту у разных видов рододендронов и об увеличении адаптации растений.

Общая активность NADH-дегидрогеназы у разных представителей семейства вересковых (обозначения как на рис. 1 и 2)

№ п/п	Вид рододендрона	Возраст	ФЕ/мл
1	Рододендрон желтый	1 год	0,009
1б	Рододендрон желтый, Клагенфурт	1 год	0,006
1в	Рододендрон желтый, Санкт-Петербург	1 год	0,002
2	Рододендрон желтый	3 года	0,021
3	Рододендрон желтый	5 лет	0,103
4	Рододендрон желтый	7 лет	0,020
5	Рододендрон желтый	30 лет	0,115
6	Рододендрон японский	1 год	0,358
7	Рододендрон японский	7 лет	0,023
8	Рододендрон японский	30 лет	0
9	Рододендрон Ледебур	1 год	0,002
10	Рододендрон Ледебур	3 года	0,015
11	Рододендрон Ледебур	30 лет	0,008
12	Рододендрон Шлиппенбаха	1 год	0,010
12б	Рододендрон Шлиппенбаха, Штутгарт	1 год	0,013
13	Рододендрон Шлиппенбаха	3 года	0,077
14	Рододендрон Шлиппенбаха	7 лет	0
15	Рододендрон Шлиппенбаха	30 лет	0,055
16 – Э1	Эрика четырехмерная	1 год	0
17 – Э2	Эрика четырехмерная	2 года	0,009

Работа выполнена в рамках и при поддержке государственного контракта на выполнение научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 годы» № 16.518.11.7099.

**Список литературы**

1. Александрова М.С. Рододендроны. – М.: ЗАО «Фитон», 2001. – 192 с.
2. Деревья и кустарники. – М., Л., 1960. – 543 с.
3. Землянухин А.А., Землянухин Л.А. Большой практикум по физиологии и биохимии растений. – Воронеж: ВГУ, 1996. – С. 97–98.
4. Землянухина О.А., Машкина О.С., Саблина И.В., Исаков Ю.Н., Епринцев А.Т. // Межрегион. сб. науч. работ. – Вып. 5. – Воронеж, 2003. – С. 46–52.
5. Левитес Е.В. Генетика изоферментов растений. – Новосибирск: Наука, 1986. – 145 с.
6. Davis B.J. Disc Electrophoresis II. Method and application to human serum proteins // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1964. – V. 121. – P. 404–427.
7. Wendel J.F., Weedel N.F. Isozymes in plant biology. Edited by D.E. Soltis, P.S. Soltis // Visualization and Interpretation of Plant Isozymes. – Chapter 1. – P. 5–45.

**References**

1. Aleksandrova M.S. *Rhododendrony* [Rhododendrons]. Moscow, ZAO «Fiton», 2001. 192 p.

2. *Derevya i kustarniki* [Trees and shrubs]. Moscow, LKI, 1960. 543 p.

3. Zemlyanukhina A.A., Zemlyanukhin L.A. *Bolshoy praktikum po fiziologii rasteniy* [Large workshop on plant physiology]. Voronezh, Voronezh State University, 1996. pp. 97–98.

4. Zemlyanukhina A.A., Mashkina O.S., Sablina I.B., Isakov Yu.N., Eprintsev A.T. *Mezhregionalnyi sbornik naychnykh trydov* [Interregional collection of scientific papers]. V. 5. Voronezh, 2003. pp. 46–52.

5. Levites E.V. *Genetika izofermentov rasteniy* [Genetics of plant isozymes]. Novosibirsk: Nauka, 1986. 145 p.

6. Davis B.J. Disc Electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1964. Vol. 121. pp. 404–427.

7. Wendel J.F., Weedel N.F. Isozymes in plant biology. Edited by D.E. Soltis, P.S. Soltis. Visualization and Interpretation of Plant Isozymes. Chapter 1. pp. 5–45.

**Рецензенты:**

Ершова А.Н., д.б.н., профессор, зав. кафедрой биологии растений и животных естественно-географического факультета ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный педагогический университет», г. Воронеж;

Корнеева О.С., д.б.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии и биохимии ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», г. Воронеж.

Работа поступила в редакцию 12.02.2012