

УДК 634.63:577.15:58.036.5

DOI: 10.36305/0513-1634-2020-135-66-71

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ В ЛИСТЬЯХ МАСЛИНЫ ЕВРОПЕЙСКОЙ В ХОЛОДНЫЙ ПЕРИОД НА ЮЖНОМ БЕРЕГУ КРЫМА

Анфиса Евгеньевна Палий

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН
298648, Республика Крым, г. Ялта, пгт Никита, Никитский спуск, 52
E-mail: onlabor@yandex.ru

Изучено изменение активности полифенолоксидазы четырех сортов и подвида маслины европейской с различной степенью морозостойкости в холодные периоды 2016-2019 гг на Южном берегу Крыма. Эталонном высокой морозостойкости служил сорт Никитская, слабой морозостойкости – сорт Кореджиоло подвид *O. europaea subsp. cuspidata*. Анализ изменения активности полифенолоксидазы в листьях маслины в холодные периоды последних трех лет показал, что активность фермента зависит от конкретных погодных условий. Однозначной зависимости изменения активности полифенолоксидазы от степени морозостойкости сортов и подвида маслины выявлено не было.

Ключевые слова: *Olea europaea* L.; листья; полифенолоксидаза; активность; холодный период на Южном берегу Крыма

Введение

Маслина европейская относится к семейству маслиновых (Oleaceae Lindl), она издавна культивируется на Южном берегу Крыма (ЮБК). В Никитском ботаническом саду собрана крупнейшая коллекция сортов и гибридов маслины в России [3]. ЮБК является северной границей культурного ареала маслины, погодные условия позволяют получать хорошие урожаи, однако резкие колебания температур в зимний период негативно сказываются на ее морозостойкости [5]. Известно, что температуры воздуха ниже -7°C являются повреждающими, а ниже $-12 \dots -15^{\circ}\text{C}$ критическими для данной культуры [8]. В связи с этим изучение механизмов адаптации маслины к низким температурам является актуальным.

Полифенолоксидаза – один из ферментов, участвующих в защите растений от воздействия патогенов и абиотических стрессовых факторов. По мнению ряда авторов, увеличение экспрессии генов полифенолоксидазы при действии стрессовых факторов, напрямую связано с устойчивостью растений [7, 9]. При возникновении стрессовых условий активность полифенолоксидазы возрастает, при этом происходит образование химических барьеров, препятствующих дальнейшему распространению активных форм кислорода. Принимая участие в регуляции метаболизма, полифенолоксидаза способствует адаптации растения к изменяющимся условиям окружающей среды [6, 8].

Целью исследования являлось определение изменения активности полифенолоксидазы в листьях некоторых сортов и подвида маслины европейской в холодный период на Южном берегу Крыма.

Объекты и методы исследований

Объектами исследований являлись сорта маслины: ‘Никитская’, ‘Асколяно’, ‘Раццо’, ‘Кореджиоло’ и подвид *O. europaea subsp. cuspidata*. Для данных сортов и подвида ранее была определена степень морозостойкости [1]: сорт ‘Никитская’ – морозостойкий, ‘Асколяно’, ‘Раццо’, ‘Кореджиоло’ и подвид *O. europaea subsp. cuspidata* – слабоморозостойкие. Для анализа с коллекционных участков Никитского ботанического сада ежемесячно с октября 2016 г. по март 2019 г. отбирали однолетние листья со средней

части побегов. Эталонном высокой морозостойкости служил сорт Никитская, слабой морозостойкости – сорт Кореджиоло и подвид *O. europaea subsp. cuspidata*.

Погодные условия холодных периодов в годы исследований приведены согласно данным агрометеорологической станции «Никитский сад» (44°31' с.ш., 34°15' в.д., высота 208 м над у.м.), опубликованным в агрометеорологических бюллетенях (форма ТСХ-8) и месячных обзорах агрометеорологических условий (или обзорах сложившихся за месяц агрометеорологических условий) (Табл. 1).

Таблица 1

Метеорологическая характеристика холодных периодов за годы исследований

Годы	Месяцы	Температура, °С				Количество осадков, мм.	
		t _{мин}	t _{макс}	t _{ср}	t _{норма}	Сумма	Климатическая норма
2016-2017	ноябрь	-0,7	20,9	8,2	8,9	51,8	62,0
	декабрь	-5,6	12,1	2,6	5,5	100,0	83,0
	январь	-7,8	11,1	2,2	3,1	114,3	73,0
	февраль	-5,0	14,2	3,6	3,3	12,9	64,0
	март	2,4	18,5	8,6	5,3	45,6	50,0
2017-2018	ноябрь	0,1	20,0	9,0	8,9	81,1	62,0
	декабрь	-0,1	16,9	8,5	5,5	86,8	83,0
	январь	-3,5	12,9	4,6	3,1	92,5	73,0
	февраль	-2,9	14,0	4,9	3,3	69,2	64,0
	март	-3,4	19,7	6,9	5,3	78,2	50,0
2018-2019	ноябрь	-1,0	18,5	8,3	8,9	93,0	62,0
	декабрь	-0,8	11,0	5,6	5,5	129,1	83,0
	январь	-1,4	13,5	4,9	3,1	109,1	73,0
	февраль	-1,4	13,5	5,4	3,3	43,3	64,0
	март	-1,4	19,0	8,7	5,3	45,0	50,0

Наиболее значительные похолодания были отмечены в январе 2017 г., когда температура воздуха опускалась ниже -7°С и удерживалась более 6 часов.

Активность полифенолоксидазы определяли колориметрически в присутствии пирокатехина и *n*-фенилендиамина на спектрофотометре Evolution 220 UV/VIS фирмы Thermo Scientific [2]. Повторность опытов 3-кратная. Результаты исследований обрабатывали стандартными методами математической статистики [4].

Результаты и обсуждение

Погодные условия холодного периода 2016 – 2017 гг. Погода ноября 2016 г. была преимущественно холодной с достаточным количеством осадков, средняя температура воздуха – на 0,7°С ниже нормы. Декабрь характеризовался холодной, с небольшими потеплениями и значительными осадками погодой. Среднемесячная температура воздуха была на 2,9°С ниже нормы. В январе 2017 г. погода была переменной, относительно холодной, в третьей декаде морозной, с обильными осадками. В среднем за месяц температура была ниже нормы на 0,9°С. В конце января происходило вторжение арктических масс воздуха, которое привело к снижению среднесуточных температур до -0,7 ... -7,8°С. Морозы сопровождались обильными снегопадами. Начало февраля было холодным – удерживались начавшиеся в конце января морозы. В дальнейшем, благодаря прохождению теплого фронта, температура повысилась. В целом погода в феврале была относительно теплой, средняя температура воздуха на 0,3°С превышала норму. Осадков за февраль выпало мало (на 80% ниже нормы). Среднемесячная температура воздуха в марте составила 8,6°С, что на 3,3°С выше нормы. Осадков за месяц выпало на 9% ниже нормы.

В ноябре 2016 г. активность полифенолоксидазы составляла 0,067-0,300 усл.ед/г·с (рис. 1). Максимальная активность выявлена для подвида *O. europaea subsp. cuspidata*, минимальна – для сорта Асколяно. После первых заморозков активность фермента снижалась в листьях сортов Кореджиоло, Никитская и особенно интенсивно (в 3 раза) у подвида маслины. Для сорта Раццо полифенолоксидазная активность оставалась неизменной, а в листьях ‘Асколяно’ – наоборот, возрастала. В январе (самом холодном месяце зимы 2016-2017 гг.) наблюдался рост ферментной активности у всех исследуемых сортов и подвида. Наиболее сильно она увеличивалась у подвида *O. europaea subsp. cuspidata* и сорта Раццо. После морозной погоды конца января-начала февраля месяца происходило снижение активности фермента. В конце холодного периода в марте месяце, при установлении теплой погоды полифенолоксидазная активность в несколько раз увеличивалась у сортов Кореджиоло, Раццо и подвида *O. europaea subsp. cuspidata*, а в листьях сортов ‘Асколяно’ и ‘Никитская’ наоборот снижалась.

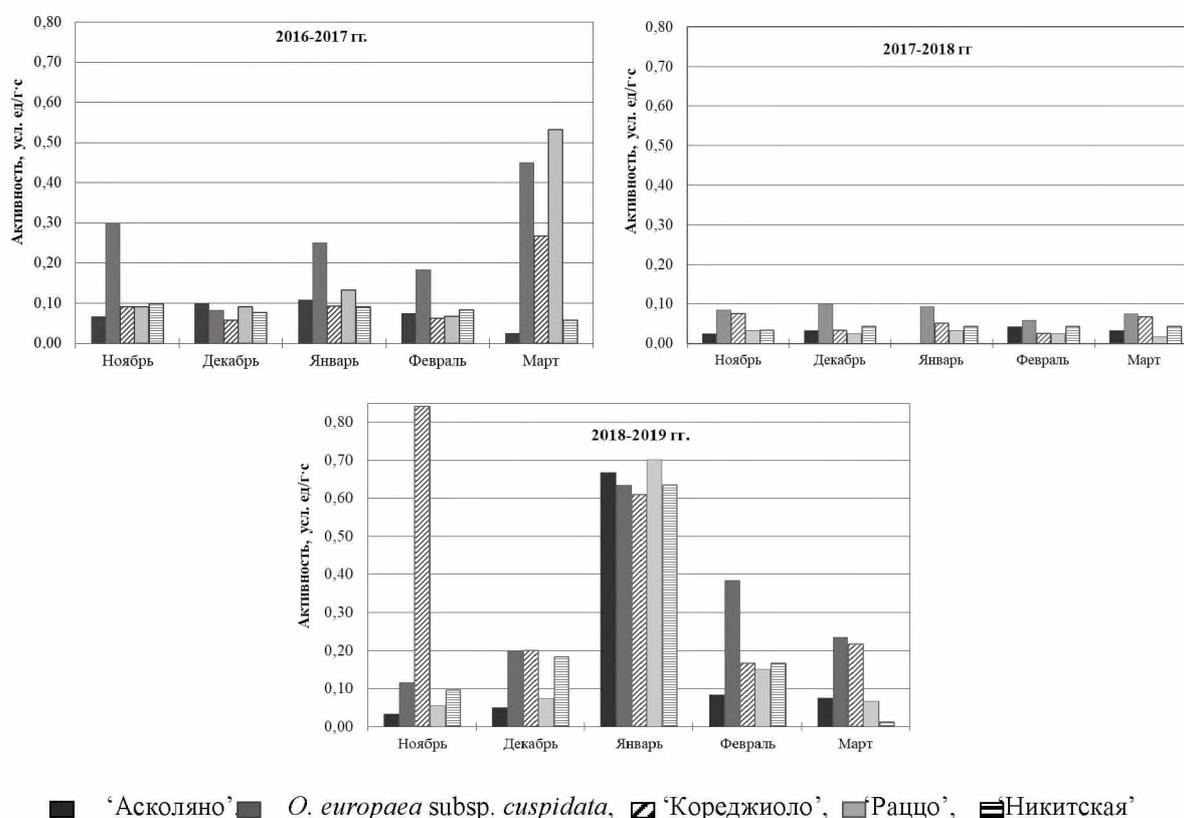


Рис. 1 Изменение активности полифенолоксидазы в листьях маслины в холодные периоды 2016-2019 гг.

Также следует отметить, что листья неустойчивого подвида *O. europaea subsp. cuspidata* отличались максимальными значениями активности фермента на протяжении всего периода измерений, за исключением декабря месяца.

Погодные условия холодного периода 2017 – 2018 гг. характеризовались сменами волн тепла и холода, немного превышали среднемноголетнюю норму и за последние десятилетия являлись достаточно типичными для ЮБК. Погода ноября 2017 г. была переменчивой, к концу месяца на поверхности почвы наблюдались первые заморозки до $-4,0$ °C. Среднемесячная температура находилась в пределах нормы. Осадки выпадали регулярно. В декабре погода на $3,0$ °C превышала многолетнюю

среднемесячную температуру. Во второй декаде минимальная температура воздуха опускалась до 0,1°C (на поверхности почвы до -3,9°C). Осадков выпало на 7% ниже нормы. Январь и февраль характеризовались относительно теплой с обильными осадками погодой. Среднемесячные температуры превышали норму на 1,5°C и 1,6°C в январе и феврале соответственно. До минимальных значений (-3,0°C) температура воздуха опускалась в конце каждого месяца. Погода марта была неустойчивой, умеренно-теплой и дождливой. Первая декада была холодной температура воздуха снижалась до -3,4°C, затем прохождение теплых фронтов привело к повышению температуры. Средняя температура воздуха была выше нормы на 1,6°C, сумма осадков была на 56% выше нормы.

В течение всего холодного периода 2017 – 2018 гг. суммарное активность полифенолоксидазы была значительно ниже (в 2-3 раза), чем в аналогичный период 2016 – 2017 гг.

Изменения полифенолоксидазной активности происходили разнонаправлено и практически не зависели от степени морозостойкости исследуемых генотипов. Минимальное активность фермента в течение всего холодного периода выявлена у сортов 'Асколяно' и 'Раццо', максимальные – у подвида. В листьях подвида *O. europaea subsp. cuspidata* активность полифенолоксидазы возрастала в декабре и постепенно снижалась в январе и феврале, а в конце холодного периода происходил рост ферментативной активности. В листьях сорта Кореджиоло наблюдались волнообразные изменения активности полифенолоксидазы, а морозостойкий сорт Никитская характеризовался наиболее плавными изменениями активности фермента.

Погодные условия холодного периода 2018 – 2019 гг. Погода ноября 2018 г. была относительно холодной с осадками. Средняя температура воздуха составила 8,3°C, что на 0,6°C ниже нормы. Со второй декады наблюдались первые заморозки до -1,0°C. Осадки за месяц были на 50% выше нормы. Погода декабря была обусловлена активной циклонической деятельностью. Среднемесячная температура воздуха на 0,1°C превышала норму. Наиболее холодно было в середине третьей декады декабря: среднесуточные температуры колебались в пределах 2,0...4,0°C, а минимальная температура опускалась до -0,8°C. Осадков за месяц выпало 156% от нормы. Январь характеризовался относительно теплой с осадками погодой. В среднем за месяц температура воздуха была выше нормы на 1,8°C. В начале месяца, в течение первой декады, из-за прохождения холодных фронтов, было относительно холодно и ветрено. Минимальная температура воздуха опускалась до -1,4°C. С начала второй декады наблюдалось постепенное, волнообразное повышение температуры. Осадков в этом месяце выпало 150% от нормы. В феврале погода была относительно теплой. В среднем температура воздуха превышала норму на 2,1°C. Минимальных значений (-1,6°C) температура воздуха достигала в начале месяца. Осадков выпало 68% от нормы. Погода марта была относительно теплая с сильными ветрами. Средняя температура воздуха на 3,0°C превышала ному. Осадков выпало мало всего 9% от месячной нормы.

Холодный период 2018-2019 гг. характеризовался самой теплой погодой за весь период проведения исследования и отличался очень сильными колебаниями активности полифенолоксидазы с ноября по март у всех исследуемых образцов маслины.

Самая низкая активность фермента наблюдалось в ноябре месяце у всех сортов и подвида, за исключением сорта Кореджиоло. В декабре в листьях Кореджиоло активность полифенолоксидазы резко падала, а у остальных исследуемых образцов маслины – возрастала в 1,5-2 раза. В январе происходил значительный рост активности фермента у всех без исключения сортов и подвида маслины, а в феврале активность фермента также интенсивно снижалась. В марте дальнейшее снижение активности полифенолоксидазы наблюдалось у всех сортов и подвида, кроме сорта Кореджиоло.

Выводы

Изучено изменение активности полифенолоксидазы в листьях некоторых сортов маслины европейской с различной степенью морозостойкости в холодные периоды 2016 – 2019 гг. на Южном берегу Крыма.

Выявлено, что холодный период 2016-2017 гг, когда происходило снижение температуры воздуха до $-7,8^{\circ}\text{C}$, наблюдались волнообразные изменения активности полифенолоксидазы, при этом максимальной ферментативной активностью отличался слабоморозостойкий подвид *O. europaea subsp. cuspidata*. В холодный период 2017-2018 гг с типичными для ЮБК за последние десятилетия погодными условиями, активность полифенолоксидазы находилась на самом низком уровне, по сравнению с другими годами исследования и ее изменения носили менее выраженный характер. В холодный период 2018-2019 гг., отличавшийся самой теплой погодой, происходили значительные изменения активности фермента у всех исследованных генотипов маслины.

Таким образом, анализ изменения активности полифенолоксидазы в листьях маслины в холодные периоды последних трех лет показал, что активность фермента зависит от конкретных погодных условий. Однозначной зависимости изменения активности полифенолоксидазы от степени морозостойкости сортов и подвида маслины выявлено не было.

Исследования выполнены на оборудовании ЦКП «Физиолого-биохимические исследования растительных объектов» (ФБИ РО) ФГБУН "НБС-ННЦ" (Ялта, Россия).

Список литературы

1. Губанова Т.Б., Брашко В.А., Палий А.Е. Морозостойкость некоторых вечнозеленых видов семейств *Oleaceae* и *Caprifoliaceae* на Южном берегу Крыма // Бюллетень ГНБС. – 2017. – Т. 125. – С. 103–108.
2. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений. – Л.: Агропромиздат, 1987. – С. 43-44.
3. Жигаревич И.А. Культура маслины. М.: Сельхозгиз, 1955. – 248 с.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия: учебное пособие для биологических специальностей вузов. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
5. Плугатарь Ю.В., Корсакова С.П., Ильницкий О.А. Экологический мониторинг Южного берега Крыма. – Симферополь: Ариал, 2015. – 164 с.
6. Araji S., Grammer T.A., Gertzen R., Anderson S.D., Mikulic-Petkovsek M., Veberic R., Phu M.L., Solar A., Leslie C.A., Dandekar A.M., Escobar M.A. Novel roles for the polyphenol oxidase enzyme in secondary metabolism and the regulation of cell death in walnut // *Plant Physiol.* – 2014. – Vpl. 63. – N 3. – P. 1191-203.
7. Cansev A., Gulen H., Eris A. Cold-hardiness of olive (*Olea europaea* L.) cultivars in cold-acclimated and non-acclimated stages: seasonal alteration of antioxidative enzymes and dehydrin-like proteins // *J. of Ag. Sci.* – 2009. – № 147. – P.51–61.
8. Larcher W. Temperature stress and survival ability of Mediterranean sclerophyllous plants // *Plant Biosyst.* – 2000. – Vol. 134. – P. 279–295.
9. Ortega-Garcia F., Peragon J. The response of phenylalanine ammonia-lyase, polyphenol oxidase and phenols to cold stress in the olive tree (*Olea europaea* L. cv. Picual) // *J. Agr. and Food Chem.* – 2009. – Vol. 89. – 1565–1573.

Статья поступила в редакцию 14.02.2020 г.

Paliy A.E. Changes in the polyphenoloxidase activity in the leaves of *Olea europaea* during the cold period on the Southern Coast of the Crimea // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2020. – № 135. – P. 66-71.

Changes in the polyphenoloxidase activity in the leaves of four cultivars and one subspecies of *Olea europaea* L. were studied during the cold periods of 2016–2019 years on the Southern Coast of the Crimea. Nikitskaya cultivar was used as a model of high frost resistance, while Correggiolo cultivar and the subspecies *O. europaea* subsp. *cuspidata* were models of low frost resistance. It was found out that the polyphenoloxidase activity depends on weather conditions during a particular cold period and it almost independent of the degree of frost resistance of the studied genotypes.

Keywords: *Olea europaea* L.; leaves; polyphenoloxidase; activity; cold period on the Southern Coast of the Crimea

УДК 634.37:581.1:58.032.3

DOI: 10.36305/0513-1634-2020-135-71-77

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ВИДОВ И СОРТОВ *FICUS* В УСЛОВИЯХ ОБЕЗВОЖИВАНИЯ НА ЮЖНОМ БЕРЕГУ КРЫМА

Оксана Анатольевна Гребенникова, Татьяна Борисовна Губанова

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН
298648, Республика Крым, г. Ялта, пгт Никита, Никитский спуск, 52
E-mail: oksanagrebennikova@yandex.ru

Представлены результаты исследований содержания пролина, активности пероксидазы, каталазы, полифенолоксидазы и параметров индукции флуоресценции хлорофилла (ИФХ) в листьях видов и сортов *Ficus* в условиях контролируемого обезвоживания. Показано, что параметрами ИФХ, наиболее чувствительными к недостатку водообеспеченности являются характеристики быстрой фазы флуоресценции хлорофилла. Содержание пролина, активность пероксидазы и полифенолоксидазы могут использоваться для дополнительной диагностики устойчивости растений рода *Ficus* к воздействию засухи. Относительно засухоустойчивыми являются сорта Сабруция Розовая, Сары Стамбульский и вид *F. palmata*.

Ключевые слова: *Ficus* L.; водный дефицит; контролируемое обезвоживание; пролин; активность ферментов; индукция флуоресценции хлорофилла

Введение

Род *Ficus* L., относящийся к семейству Moraceae Link, насчитывает более 1000 видов. В качестве плодовых растений, культивируемых в Никитском ботаническом саду, представляют интерес виды *Ficus carica* L., *Ficus palmata* Forsk., *Ficus virgata* Roxb.. Наиболее популярной культурой является инжир (*Ficus carica* L.), отличающийся регулярным плодоношением, ранним и продолжительным созреванием плодов, обладающих приятным вкусом, высокой калорийностью и диетическими свойствами [7]. Условия Южного берега Крыма благоприятны для возделывания растений рода *Ficus*, однако высокая вероятность наступления засухи в летний период может отрицательно сказаться на жизнедеятельности и урожайности этой культуры [6], поэтому изучение механизмов адаптации к водному дефициту является актуальным. Известно, что действие на растение стрессовых факторов сопровождается интенсификацией процессов окисления и образованием активных форм кислорода (АФК). Для защиты от окислительного повреждения в растениях существует антиоксидантная система, включающая как специфические окислительно-восстановительные ферменты (каталазу, супероксиддисмутазу и различные оксидазы, в том числе пероксидазу и полифенолоксидазу), так и низкомолекулярные небелковые антиоксиданты (фенольные соединения, аскорбиновую кислоту, пролин и др.) [11, 15]. Уровень антиоксидантной