

УДК 581.543.6

doi: 10.31140/j.vestnikib.2018.2(204).1

## ОВОДНЕННОСТЬ И ТЕМПЕРАТУРА ФАЗОВОГО ПЕРЕХОДА ВОДА–ЛЕД В ПОЧКАХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

Р.В. Малышев<sup>1</sup>, М.С. Атоян<sup>2</sup><sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар

<sup>2</sup> Сыктывкарский государственный университет им. Питурима Сорокина, Сыктывкар

E-mail: malrus@ib.komisc.ru

**Аннотация.** В осенне-зимне-весенний период исследовали сезонное изменение температуры замерзания воды, общую оводненность и долю связанной воды в почках древесных растений *Betula pendula*, *Populus nigra*, *Syringa vulgaris* и *Vaccinium myrtillus*. Установлено, что в течение года флуктуация температуры замерзания воды в почках изученных видов растений не превышает 3.5 °С, границы фазового перехода вода–лед зафиксированы в диапазоне от –8 до –12 °С. С наступлением осенне-зимнего периода оводненность почек снижалась, а доля связанной воды возрастала, что способствовало увеличению криорезистентности.

**Ключевые слова:** температура замерзания воды, оводненность, свободная вода, почки растений

Воде принадлежит исключительная роль в жизни всех существующих на Земле организмов. По справедливому выражению А. Сент-Дьерди, «вода – это матрица жизни, выполняющая многообразные функции в организме» (Физиология растений, 2005). Вода составляет 80–85 % вегетативной массы растений. Наиболее оводнены молодые листья (до 90 %), сочные плоды (до 95 %). Существенно меньше воды содержится в семенах (до 15 %), зимующих почках и стволах деревьев (40–50 %) (Миронов, 2001; Физиология растений, 2005; Медведев, 2012).

Для функционирования живых клеток важна не только их общая оводненность, но и состояние, в котором находится вода (Романов, 1970). Состояние воды характеризуется её структурой, соотношением так называемой свободной и связанной с клеточными компонентами воды. Молекулы воды обладают большим дипольным моментом за счет смещения электронов к кислороду и способны образовывать водородные связи с соседними молекулами. Находясь в сложной гетерогенной клеточной среде, вода взаимодействует с ионами и молекулами других веществ. Известно, что одна молекула белка может связывать до 1000 молекул воды (Некрасов, 1973). Клеточные мембраны содержат 25–30 % воды, которая связана с белками и полярными частями липидов. В растительной клетке существуют по меньшей мере три различающихся по состоянию воды компартмента: клеточные стенки, протоплазма и вакуоль.

Основной причиной гибели клетки при отрицательных температурах является льдообразование, в результате которого происходит обезвоживание и механическое повреждение клеточных структур кристаллами льда (Туманов, 1963; Самыгин, 1969, 1974; Трунова, 2007). Последствия

воздействия низких температур в значительной степени зависят от оводненности тканей растения, содержания свободной и связанной воды.

Таежная зона европейского северо-востока России характеризуется умеренно-континентальным климатом с холодной и продолжительной зимой. Частое вторжение арктических масс воздуха сопровождается резкими похолоданиями, при которых температура воздуха может опускаться до –30...–40 °С. Самым холодным месяцем является январь (Коми ЦГМС). Начало безморозного периода со средней суточной температурой выше 0 °С наступает в середине апреля, а переход через 5 °С наблюдается в начале мая. Возврат холодов и заморозки отмечаются вплоть до середины июня (Агроклиматические ресурсы..., 1973).

Виды древесных растений, произрастающие в северных широтах, способны адаптироваться к низким температурам и могут выдерживать зимой морозы до –50 °С и ниже. Большое значение для их выживания имеет устойчивость почек (Sakai, 1982; Larcher, 2003). В холодном климате почки растений данной жизненной формы зимуют в состоянии глубокого покоя. Сигналом для вступления в покой служат укорочение фотопериода (увеличение продолжительности ночи) и снижение температуры (Туманов, 1963; Aroga, 2003). Процесс перехода растений в состояние глубокого покоя сопровождается комплексом структурных и функциональных перестроек, обеспечивающих их сохранение в осенне-зимний период. Покоящиеся почки характеризуются отсутствием внешних признаков роста, высокой устойчивостью к обезвоживанию и неблагоприятным воздействиям среды, в первую очередь, низким отрицательным температурам (Туманов, 1979). Этому способствует накопление в почках ингибиторов роста и защитных веществ, а также со-

держание и состояние воды в них (Климов, 2001; Трунова, 2007). Изучение содержания и температуры замерзания разных фракций воды имеет практическое значение, так как эти показатели могут быть полезными при селекции на зимостойкость и интродукции растений (Панфилова, 2016).

В настоящей работе приведены результаты исследования сезонных изменений температуры фазового перехода вода–лед и содержания разных фракций воды в почках четырех древесных растений в подзоне средней тайги.

**Материалы и методы**

Исследования проводили на вегетативных почках *Vaccinium myrtillus* (черника обыкновенная), *Betula pendula* Roth. (береза повислая), *Populus nigra* L. (тополь черный) и *Syringa vulgaris* L. (сирень обыкновенная), произрастающих в окрестностях г. Сыктывкара. Черника и береза являются представителями природной флоры, тополь и сирень – интродуценты, прошедшие длительный период акклиматизации в данном регионе. Материал для исследования отбирали ранней осенью, зимой и весной до распускания почек.

В работе использовали метод дифференциальной сканирующей калориметрии. Измерения температуры кристаллизации воды в почках проводили на калориметре DSC-60 Shimadzu (Япония). Образцы (целые почки) массой 10–50 мг помещали в алюминиевый контейнер объемом 100 мм<sup>3</sup> и охлаждали со скоростью 1 °С/мин от +5 до –30 °С. Температуру кристаллизации воды определяли по началу пика фазового перехода (рис. 1). После измерений материал высушивали при 105 °С до постоянной массы. Оводненность оценивали по разности сырой и сухой массы объекта. Количество воды, претерпевшей фазовый переход, определяли по формуле:  $m_{\text{замер. воды}} = 335 Q$ , где Q – тепловой эффект при нуклеации воды, Дж; 335 – удельная теплота льдообразования для пресной воды, Дж/кг.

Статистическую обработку результатов проводили в среде «MS Excel 2003» с использованием надстройки «AtteStat» (версия 12.5). Полученные данные оценивали на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. На рисунках представлены среднеарифметические значения с

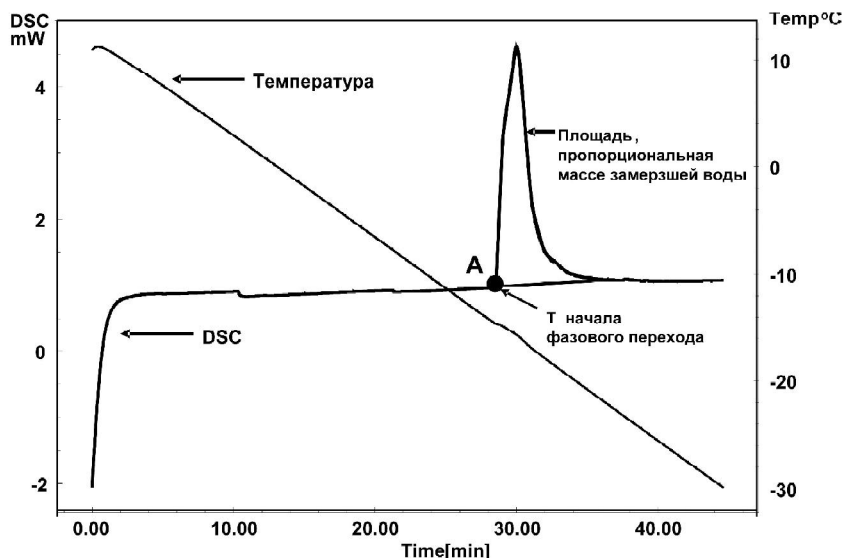


Рис. 1. Термограмма кристаллизации воды в образце.

ошибкой среднего значения из 6–10 биологических повторностей.

**Результаты и их обсуждение**

Нами установлено, что содержание воды в почках варьировало в широком диапазоне (от 0.4 до 3.7 мг H<sub>2</sub>O/мг сухой массы) в зависимости от вида растения и времени года (рис. 2). Наименьшей оводненностью характеризовались почки березы. В период предварительного покоя (август) содержание воды не превышало 0.5 мг/г сухой массы и оставалось довольно низким всю зиму, вплоть до апреля. Перед распусканием (начало мая) оводненность почек березы увеличивалась более чем вдвое. В этот период усиливается работа «нижнего концевое двигателя» (корневого давления),

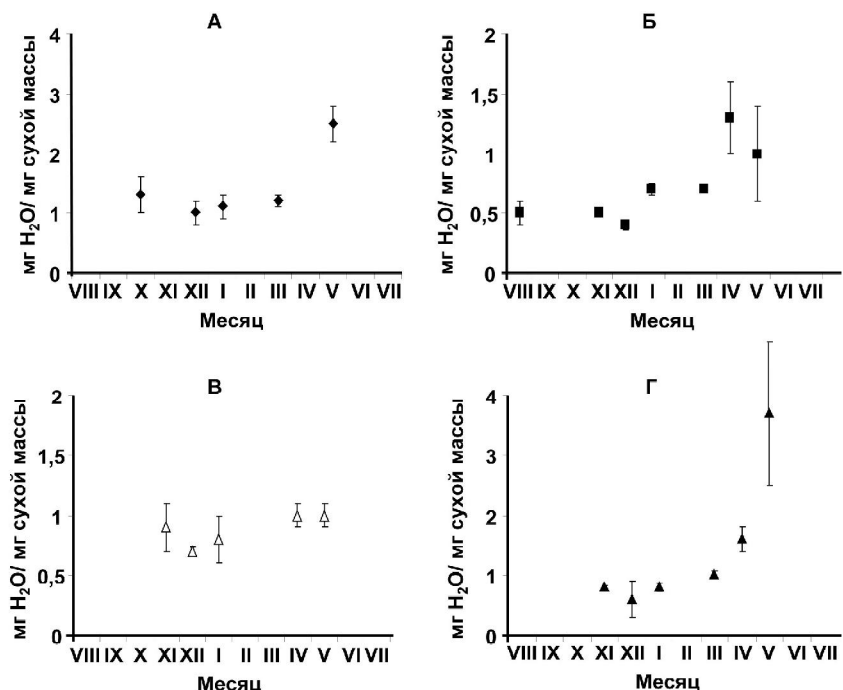


Рис. 2. Сезонная динамика оводненности тканей почек *Vaccinium myrtillus* (А), *Betula pendula* (Б), *Populus nigra* (В), *Syringa vulgaris* (Г).

что приводит к нагнетанию воды (сокодвижение). Увеличение оводненности на фоне повышения температуры воздуха является необходимым условием активации связанных с ростом метаболических процессов.

Сходные сезонные изменения оводненности почек наблюдали и у других исследованных видов, за исключением тополя. У тополя увеличение содержания воды перед распусканием почек весной было выражено в меньшей степени, но в зимний период почки тополя не отличались значительно от почек других видов по оводненности. Можно выстроить следующий ряд по содержанию воды в почках исследованных растений в период глубокого покоя (декабрь-январь): *Betula pendula* (0.5 мг/г) < *Populus nigra*, *Syringa vulgaris* (0.6–0.7 мг/г) < *Vaccinium myrtillus* (1.0 мг/г).

По имеющимся в литературе данным, содержание воды в почках *Picea obovata* L. и *Pinus sylvestris* L. зимой не превышало 0.5 мг/мг сухой массы (Алаудинова, 2007) и этого достаточно, чтобы растения могли выдерживать снижение температуры до –35...–40 °С. На хвойных было также показано, что содержания воды в количестве ≤1.3 мг H<sub>2</sub>O/мг сухой массы достаточно для сохранения жизнеспособности почек при охлаждении до –15 °С (Алаудинова, 2007).

С учетом этого вполне закономерна более высокая оводненность почек черники. От сильных морозов растения черники защищены снежным покровом (до 80–90 см), теплоизоляционные свойства которого препятствуют понижению температуры. Даже в самый холодный месяц (январь) температура под снежным покровом не падает

ниже –14 °С, а в верхнем слое почвы редко опускается до –4 °С (Агроклиматические ресурсы..., 1973). Ранее было показано, что подземные побеги (корневища) многолетних растений (*Achillea millefolium* L.) зимуют с содержанием воды в тканях около 90 % (Сезонные изменения..., 2013).

Калориметрические определения выявили величину и сезонные изменения температуры фазового перехода вода–лед в почках исследованных видов растений. В целом изменения и размах варьирования температуры замерзания воды были сходными с изменением оводненности почек. У тополя и сирени отмечали увеличение температуры фазового перехода вода–лед к началу весны до –7...–8 °С. Поздней осенью и зимой температура замерзания воды была ниже на 2–3 °С, чем весной, и составляла –10...–11 °С. У почек березы температура кристаллизации воды варьировала в пределах от –8.5 до –10.5 °С. При этом наблюдали тенденцию к ее снижению в начале весны (март), когда почки уже находились в состоянии вынужденного покоя. В почках черники зимой вода замерзала при температуре –11...–12 °С, перед распусканием весной – при –9.5 °С.

Таким образом, в осенне-зимне-весенний период амплитуда варьирования температуры кристаллизации воды в почках исследованных видов древесных растений составляла около 3 °С. Температура фазового перехода вода–лед снижалась до –7...–8 °С весной (апрель-май) перед распусканием почек.

Как отмечено выше, фазовому переходу подвергается только часть клеточной воды, которая слабо связана с компонентами клетки. Полагают, что при температуре кристаллизации до –15 °С это вода, находящаяся в межклетниках (Бакрадзе, 1983; Миронов, 2001). Тот факт, что полученные нами значения температуры замерзания воды в почках были выше –15 °С, указывает на связь экзотермического эффекта при фазовом переходе вода–лед с фракцией свободной воды.

Анализ термограмм (рис. 1) исследованных образцов позволил определить количество содержащейся в объекте воды, которая переходила в кристаллическое состояние, и долю этой воды от общей оводненности.

Доля замерзающей воды в почках березы варьировала от 40 до 60 % (рис. 4). При этом в зимние месяцы она была ниже, чем в период предварительного покоя (август) и перед распусканием. Примерно в тех же пределах изменялось количество замерзающей воды в почках тополя и сирени. В поч-

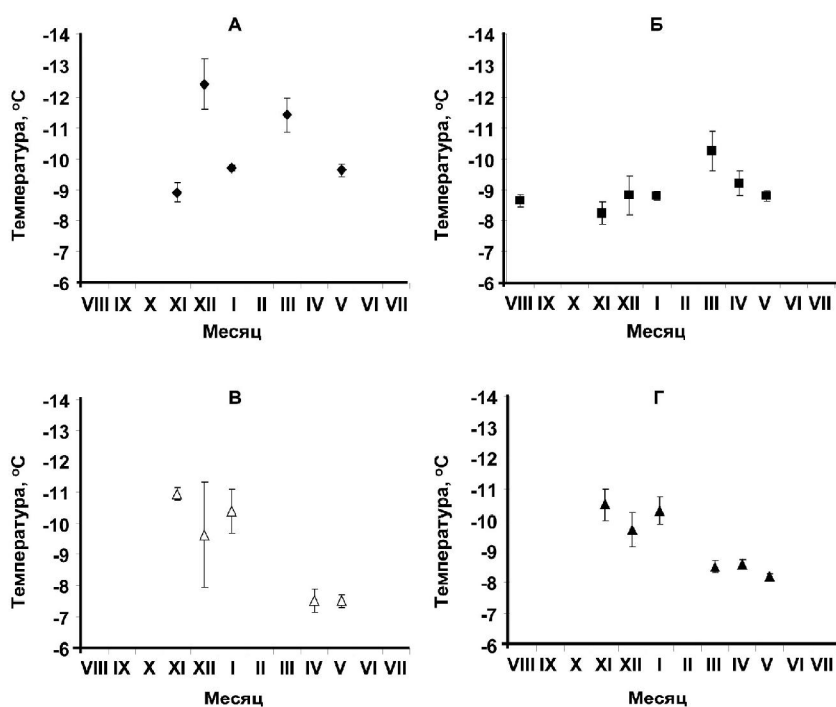


Рис. 3. Сезонная динамика температуры фазового перехода вода–лед в почках *Vaccinium myrtillus* (А), *Betula pendula* (Б), *Populus nigra* (В), *Syringa vulgaris* (Г).

как черники доля этой фракции воды зимой снижалась до 20 %, а осенью и весной перед распусканием достигала 50 %. Полученные данные позволяют заключить, что в осенне-зимне-весенний период изменяется не только общая оводненность тканей почек, но и доля свободной воды. Такая динамика оводненности и доли свободной воды хорошо выражена у почек черники. Увеличение доли связанной воды в тканях является проявлением одного из механизмов криозащиты. К зиме внутри клетки повышается концентрация низкомолекулярных водорастворимых белков, углеводов, аминокислот, которые не только повышают осмотическое давление цитоплазмы и защищают ферментативные системы от криповреждения, но и способны связывать значительное количество воды (Романов, 1970; Некрасов, 1973; Миронов, 2001; Фракционный состав..., 2006; Трунова, 2007; Effect of low..., 2011). Результат коллективного действия криопротекторов различной природы четко проявляется на полученных DSC кривых (рис. 5).

При понижении температуры почки березы зафиксирован один многовершинный пик с началом экспоненциального нарастания при  $-8^{\circ}\text{C}$  и плавным снижением диссипации тепла до температуры  $-25^{\circ}\text{C}$ . Экзотермический пик, занимающий диапазон температуры  $-8...-25^{\circ}\text{C}$ , отражает характер фазового перехода вода-лед. Его экспоненциальная часть – это тепло, выделяемое при нуклеации фракции свободной воды, а снижение теплового потока, близкое к логарифмическому (обозначено на рисунке стрелками), может быть результатом постепенного замерзания воды, находящейся в частично (слабо) связанном состоянии. По-видимому, это вода внешних гидратных оболочек ионов. Пилообразный характер нарастания пика мы связываем с неоднородностью тканей целой почки, помещаемой в контейнер калориметра. Важно отметить отсутствие на рассматриваемой кривой дополнительных пиков при дальнейшем понижении температуры вплоть до  $-40^{\circ}\text{C}$ . Это указывает на то, что оставшаяся вода (не претерпевшая фазовый переход) прочно ассоциирована с гидрофильными криопротекторами, клеточными мембранами и бел-

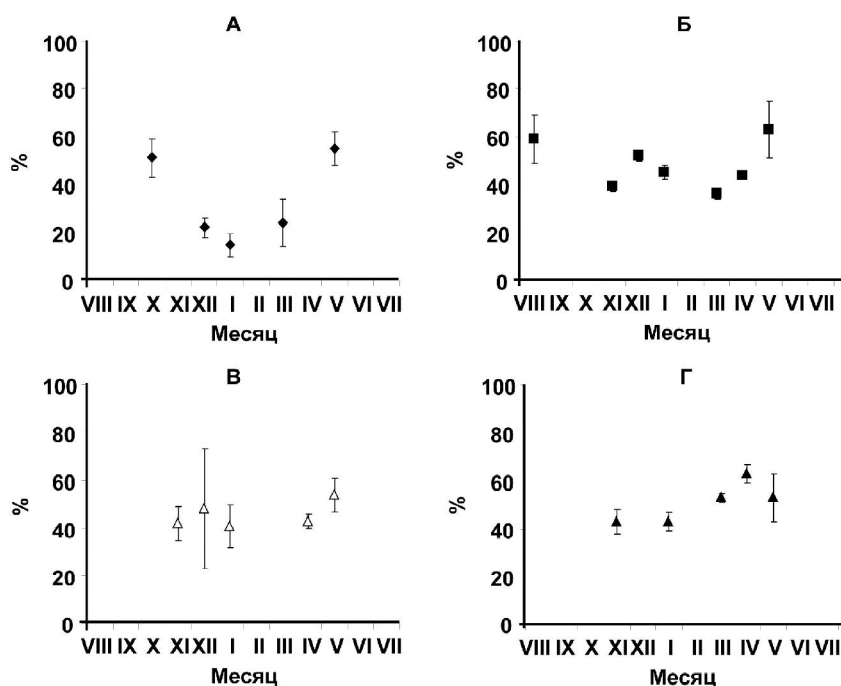


Рис. 4. Сезонная динамика доли замерзшей воды от общей оводненности в тканях почек *Vaccinium myrtillus* (А), *Betula pendula* (Б), *Populus nigra* (В), *Syringa vulgaris* (Г).

ковыми молекулами. Известно, что накопление сахаров увеличивает содержание связанной воды, снижает температуру замерзания, уменьшает льдообразование, оказывает защитное влияние на белки и клеточные мембраны, защищает протопласт клетки от обезвоживания (Климов, 2001). Выживанию клеток при гипотермии способствуют также низкомолекулярные белки, аминокислоты и углеводы.

### Выводы

1. Оводненность почек исследованных видов изменялась в зависимости от вида и фазы покоя. Наименьшая оводненность отмечена у почек бе-

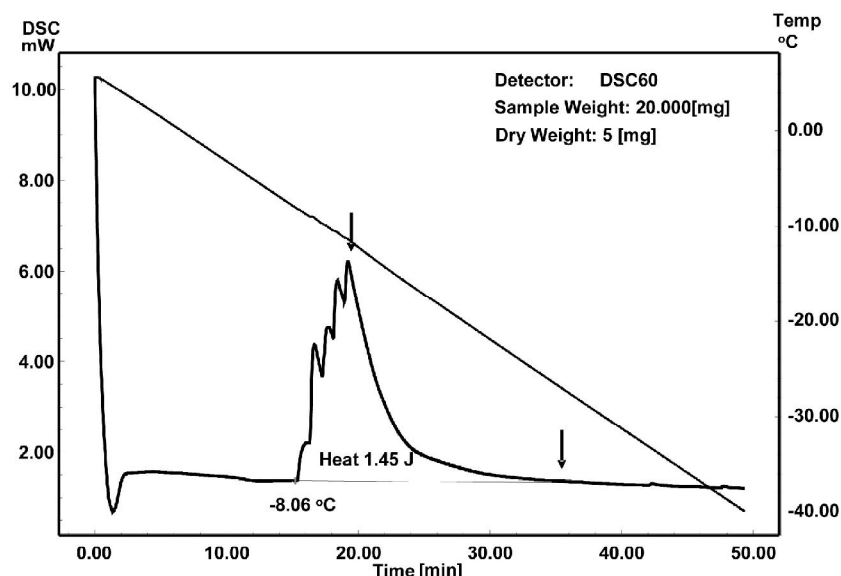


Рис. 5. Термограмма кристаллизации воды в почке *Betula pendula* (декабрь).

резы повислой в период глубокого покоя (декабрь). В почках интродуцентов сирени и тополя оводненность тканей в период зимнего покоя была заметно выше. Наибольшей оводненностью отличались почки зимующего под снежным покровом кустарничка – черники обыкновенной. С наступлением весны количество воды в тканях почек всех изученных видов возрастало.

2. Впервые получены данные о температуре фазового перехода вода–лед в почках древесных растений. Установлено, что в период зимнего покоя температура замерзания воды в почках составляет в среднем  $-10...-11^{\circ}\text{C}$ , а с наступлением весны повышается на  $2-3^{\circ}\text{C}$ .

3. Выявлена сезонная динамика свободной воды в тканях почек. Доля фракции свободной воды снижалась по мере перехода почек в состояние зимнего покоя и вновь повышалась перед распусканием. Сезонные изменения соотношения свободной и связанной воды были наиболее выражены у черники.

Авторы признательны проф. Т.К. Головки за ценные советы при подготовке рукописи статьи.

*Работа выполнена в рамках темы «Физиология и стресс-устойчивость фотосинтеза растений и психологических фотавтотрофов в условиях Севера» (№ ГР АААА-А17-117033010038-7).*

#### ЛИТЕРАТУРА

- Агроклиматические ресурсы Коми АССР / отв. ред. В. А. Панасенко ; Главное управление гидрометеорологической службы при СМ СССР, Сев. упр. гидрометеор. служб, Арханг. бюро погоды. – Ленинград : Гидрометеиздат, 1973. – 134 с.
- Алаудинова, Е. В. Сезонные изменения содержания воды в меристематических тканях почек *Picea obovata* L. и *Pinus sylvestris* L. и ее распределение в клетках / Е. В. Алаудинова, С. Ю. Симкина, П. В. Миронов // Хвойные бореальной зоны. – 2007. – Т. 24, № 4–5. – С. 487–491.
- Бакрадце, Н. Г. О кристаллизации внутриклеточной воды в тканях растений / Н. Г. Бакрадце, Ю. И. Балла // Биофизика. – 1983. – Т. 28. – С. 119–121.
- Бакулин, Т. В. Селекция тополя в Сибири / Т. В. Бакулин // Лесное хозяйство. – 2006. – № 6. – С. 40–41.
- Белки цитоплазмы меристем почек ели: динамика аминокислотного состава / П. В. Миронов, Е. В. Алаудинова, Ю. С. Шимова, С. Ю. Симкина // Химия растительного сырья. – 2007. – № 4. – С. 95–100.
- Климов, С. В. Пути адаптации растений к низким температурам / С. В. Климов // Успехи современной биологии. – 2001. – Т. 121. – С. 3–22.
- Коми ЦГМС : Климат г. Сыктывкара [Электронный ресурс] // Центр по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды Республики Коми [официальный сайт]. – Режим доступа: <http://meteork.ru/climate/sykt.shtml>.
- Левит, Дж. Повреждения и выживание после замораживания и связь с другими повреждающими действиями / Дж. Левит // Холодостойкость растений. – Москва : Колос, 1983. – С. 10–22.
- Медведев С. С. Физиология растений : учебное пособие / С. С. Медведев. – Санкт-Петербург : БХВ-Петербург, 2012. – 512 с.
- Миронов, П. В. Низкотемпературная устойчивость живых тканей хвойных / П. В. Миронов, Е. В. Алаудинова, С. М. Репах. – Красноярск, 2001. – 221 с.
- Некрасов, Б. В. Основы общей химии. Т. 1 / Б. В. Некрасов. – Москва : Химия, 1973. – 656 с.
- Панфилова, О. В. Использование методов определения водного обмена в селекции на зимостойкость смородины красной / О. В. Панфилова, О. Д. Голяева // Селекция и сорторазведение садовых культур. – 2016. – Т. 3. – С. 112–115.
- Романов, Т. Д. Физико-химические свойства белков и активность дегидрогеназ в связи с состоянием воды в зимующих растениях: автореф. кандидата биологических наук / Т. Д. Романов. – Казань, 1970. – 16 с.
- Самыгин, Г. А. О причинах гибели растительных клеток от мороза // Физиология приспособления и устойчивость растений при интродукции / С. Г. Самыгин. – Новосибирск : Наука, 1969. – С. 71–85.
- Самыгин, Г. А. Причины вымерзания растений / Г. А. Самыгин. – Москва : Наука, 1974. – 190 с.
- Сезонные изменения роста и метаболической активности подземных побегов тысячелистника обыкновенного / С. П. Маслова, Г. Н. Табаленкова, Р. В. Малышев, Т. К. Головки // Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 6. – С. 865–873.
- Трунова, Т. И. Растение и низкотемпературный стресс / Т. И. Трунова. – Москва : Наука, 2007. – 54 с.
- Туманов, И. И. Морозоустойчивость плодовых растений / И. И. Туманов // Известия АН СССР. – 1963. – № 3. – С. 459–464.
- Туманов, И. И. Физиология закаливания и морозостойкости растений / И. И. Туманов. – Москва : Наука, 1979. – 352 с.
- Физиология растений : учебное пособие / под ред. И. П. Ермакова. – Москва : Академия, 2005. – 640 с.
- Фракционный состав водорастворимых цитоплазматических белков меристем зимующих почек ели и пихты / П. В. Миронов, Е. В. Алаудинова, Ю. С. Шимова, С. Ю. Симкина // Хвойные бореальной зоны. – 2006. – Т. 18, № 2. – С. 228 – 231.
- Arora, R. Induction and release of bud dormancy in woody perennials: A science comes of age / R. Arora, L. J. Rowland, K. Tanino // HortScience. – 2003. – Vol. 38. – P. 911–921.
- Effect of low temperatures on the structure of plant cells: Structural, Biochemical, and molecular aspects // Handbook of Plant and Crop Stress / L. Slovakova, I. Matusikova, J. Salaj, J. Hudak ; ed. M. Pessarakli. – New York, 2011. – P. 536–564.
- Kaurin, A. Seasonal changes in frost hardiness in cloudberry (*Rubus chamaemorus*) in relation to carbohydrate content with special reference to sucrose / A. Kaurin, O. Junttila, J. Hanson // Physiologia Plantarum. – 1981. – Vol. 52, N 2. – P. 310–314.
- Larcher, W. Physiological Plant Ecology Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups / W. Larcher // Springer. – 2003. – 514 p.
- Sakai, A. Freezing tolerans of shoot end flower primordia of coniferous buds by extraorgan freezing / A. Sakai // Plant Cell physiol. – 1982. – Vol. 23. – P. 1219–1227.

**WATER CONTENT AND TEMPERATURE OF THE WATER-ICE PHASE TRANSITION  
IN THE BUDS OF WOODY PLANTS**

**R.V. Malyshev<sup>1</sup>, M.S. Atoian<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar*

<sup>2</sup>*Pitirim Sorokin Syktyvkar State University, Syktyvkar*

*Summary.* Seasonal changes in the freezing point of water, the water content and the proportion of bound water have been studied in autumn, spring and winter in the buds of *Betula pendula*, *Populus nigra*, *Syringa vulgaris* and *Vaccinium myrtillus*. During the year, the temperature of freezing of water in the buds was changed and the boundaries of the water-ice phase transition were fixed in the range from  $-8$  to  $-12$  °C. The water content in buds of *Populus nigra* and *Syringa vulgaris* in winter was higher than in buds of *Betula pendula*. The buds of *Vaccinium myrtillus* contained less water in winter. In spring, the content of water in the buds of the investigated plants increased. The seasonal dynamics of free water in the tissues of buds was also revealed. Fraction of free water decreased as buds passed to the state of winter rest and then increased again before the opening of the buds. Seasonal changes in the ratio of free and bound water were more pronounced in *Vaccinium myrtillus*.

*Key words:* freezing point of water, free water, water content, plant buds