

**И.Н. Зубов<sup>1</sup>, С.С. Хвиюзов<sup>1</sup>, М.А. Лобанова<sup>1</sup>, М.А. Гусакова<sup>1</sup>, К.Г. Боголицын<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Институт экологических проблем Севера УрО РАН,

<sup>2</sup>Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова

Зубов Иван Николаевич родился в 1988 г., окончил в 2010 г. Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, аспирант лаборатории химии растительных биополимеров ИЭПС УрО РАН. Имеет 8 научных трудов в области химии древесины.

E-mail: zubov.ivan@bk.ru



Лобанова Мария Андреевна родилась в 1989 г., окончила в 2011 г. Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, аспирант лаборатории химии растительных биополимеров ИЭПС УрО РАН. Имеет 2 научных труда в области химии древесины.

Тел.: 8 (8182) 28-55-40



Гусакова Мария Аркадьевна родилась в 1966 г., окончила в 1989 г. Архангельский лесотехнический институт, кандидат технических наук, старший научный сотрудник лаборатории химии растительных биополимеров ИЭПС УрО РАН. Имеет более 80 научных трудов в области химии древесины.

Тел.: 8 (8182) 28-55-40



## **ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ ЛИГНОУГЛЕВОДНОЙ МАТРИЦЫ ДРЕВЕСИНЫ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА\***

Обоснован выбор биообъекта и определен химический состав можжевельник обыкновенного (*Juniperus communis* L.). Проведена оценка параметра активности пероксидазы хвои можжевельника различных природно-климатических зон Европейского Севера. Выявлен возрастной и зональный характер изменчивости содержания основных компонентов древесины и параметра активности пероксидазы.

*Ключевые слова:* можжевельник, клеточная стенка, биосинтез, лигноуглеводный комплекс, ферментативная активность, пероксидаза.

С современных позиций лигноуглеводная матрица рассматривается как нанобиоккомпозит полисахаридов (целлюлоза и гемицеллюлозы) и ароматического полифункционального биополимера нерегулярного строения (лигнин), имеющий сложную иерархическую организацию [10].

Молекулярный уровень организации позволяет объяснить свойства отдельного полимера, зависящие от особенностей химического строения. Рассмотрение надмолекулярного уровня затрагивает вопросы взаимодействия компонентов клеточных оболочек. С одной стороны, это вопросы синтеза клеточных оболочек и процессов самоорганизации, управляющих образованием объектов биологического происхождения, а с другой – термодинамической совместимости компонентов растительной ткани.

Доля лигнина в древесине достаточно широко варьирует и составляет 25...30 % для хвойных и 19...23 % для лиственных пород.

Содержание лигнина определяется не только породой, но и другими факторами: климатической зоной произрастания, характером почвы, возрастом дерева. При этом основная масса лигнина сосредоточена в веществе срединной пластинки, примерно 25 %

---

\* Работа выполнена в рамках проекта УрО РАН 12-М-45-2012 «Влияние абиотических факторов на структуру и свойства надмолекулярных комплексов биополимеров растительной клетки» (Проект в рамках Программы междисциплинарных фундаментальных исследований, выполняемых в нескольких организациях УрО РАН, относящихся к разным объединенным ученым советам УрО РАН).

– в клеточной стенке. Лигнины, локализованные в этих двух местоположениях клеточной ткани, значительно различаются по своим химическим и полимерным свойствам.

Ключевым моментом при анализе основных аспектов формирования структуры растительной ткани является исследование процессов лигнификации, представляющей собой систему сложных биологических, биохимических и химических процессов. При анализе механизма биосинтеза можно выделить два принципиально различающихся этапа:

синтез первичных мономерных предшественников лигнина – монолигнолов;

полимеризация монолигнолов, протекающая по радикальному механизму и приводящая к образованию макромолекул и формированию конденсированной фазы лигнина в клеточных оболочках и межклеточном пространстве.

Реализация данного механизма биосинтеза лигнина может быть представлена в виде схем процессов, приведенных на рис. 1.

Таким образом начальные стадии биосинтеза лигнина связывают с образованием глюкозы при фотосинтезе. Последняя превращается в шикимовую кислоту – важнейшее промежуточное соединение на пути образования двух ароматических аминокислот: *L*-фенилаланина и *L*-тирозина, получающихся восстановительным аминированием через префеновую кислоту. В свою очередь, данные аминокислоты служат исходными веществами («аминокислотная совокупность») для ферментативного синтеза фенилпропаноидных соединений (путь коричной кислоты), который приводит через активированные производные коричной кислоты к трем коричневым спиртам, а также к некоторым компонентам экстрактивных веществ (флавоноиды и стильбены). Образование полимерных молекул лигнина из монолигнолов протекает через стадию дегидрогенизационной полимеризации *n*-гидроксикоричных спиртов с появлением резонансно стабилизированных феноксильных радикалов и их сочетание с получением дилигнолов, олиголигнолов и, в конечном итоге, разветвленного полилигнола –



клетке, связанных с окислением фенольных соединений, формированием клеточной стенки и ее укреплением (рис. 2).

С окончанием клеточного роста связывают интенсификацию стадии лигнификации, которую катализирует пероксидаза. При этом в лигнификации и образовании диферуловой кислоты, по-видимому, принимают участие разные изоформы пероксидазы [13].

Хотя данных, указывающих на изменение активности пероксидаз и образование изоформ под действием факторов среды много, однако они имеют недостаточно систематизированный характер и не позволяют установить четкой зависимости между данным параметром и компонентным составом лигноуглеводной матрицы. Во многом это связано, по нашему мнению, с недостаточно аргументированным выбором объекта исследования.

Для оценки воздействия абиотических факторов на процесс биосинтеза основных компонентов клеточной стенки необходим биообъект, обладающий

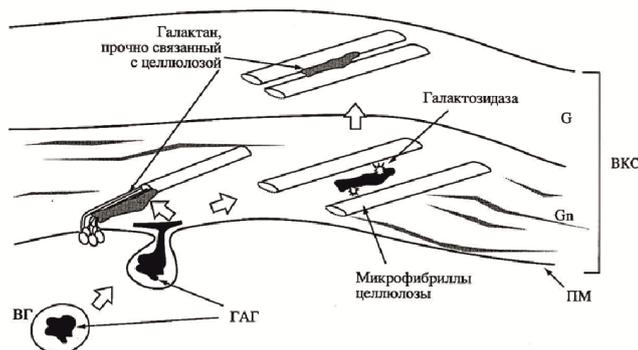


Рис. 2. Схема ключевых процессов, происходящих при формировании надмолекулярной структуры растительной клеточной стенки [4] (ВГ – везикулы Гольджи, ВКС – вторичная клеточная стенка и ее слои (G, Gp); ПМ – плазматическая мембрана, ГАГ – галактан аппарата Гольджи)

обширным географическим ареалом. Одним из наиболее представительных, древних, специфических и малоизученных биообъектов являются вечнозеленые хвойные деревья можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis* L.), произрастающие от 70 до 30°с.ш. [14].

Цель данной работы – изучение влияния абиотических факторов на формирование лигноуглеводной матрицы древесного вещества, а также поиск возможных маркеров данного процесса на примере можжевельника.

Представительные образцы древесины и хвои можжевельника в возрасте от 59 до 140 лет были отобраны на территории Архангельской области, между 67 и 64°с.ш., вне зоны антропогенного и техногенного влияния. Химический состав древесины (содержание целлюлозы, лигнина, веществ экстрагируемых горячей водой и этанолом, золы) определен по методикам [6], возраст древесины – по числу годовичных колец на поперечных срезах у корневой шейки стволиков можжевельника. Ширину годовичного слоя измеряли при помощи масштабной линейки микроскопа МБС-1 (увеличение окуляра  $\times 8$ , объектива  $\times 2$ ). Точность измерений  $\pm 0,05$  мм. Перед измерением цилиндрическую поверхность керны зачищали бритвой, смачивали водой и оттеняли мелом для усиления контраста окраски ранней и поздней древесины.

Для оценки параметра активности пероксидазы хвои использовали методику [11], доработанную и адаптированную для растительного сырья. Методика основана на определении скорости окисления 0,8 мМ гваякола («Sigma») 1,5 мМ пероксидом водорода при температуре 25 °С в среде 0,1 М калий-фосфатного буфера (рН 7,0) при  $\lambda = 440$  нм на УФ-спектрофотометре (Shimadzu UV-1800).

Как видно из данных табл. 1, древесина можжевельника отличается от древесины других хвойных пород пониженным содержанием целлюлозы, более свойственным лиственной древесине, что возможно объясняет некоторые физические свойства (высокая плотность и гидрофобность) можжевельника. Содержание лигнина характерно для хвойных пород.

Таблица 1

## Содержание основных компонентов для некоторых видов древесины

Вид древесины [3, 5]	Содержание, % к а.с.д.	
	Лигнин Класона	Целлюлоза
Ель	27,0 ... 29,6	46,1 ... 52,4
Сосна	27,4 ... 36,5	51,9
Пихта	29,4 ... 34,5	51,0 ... 52,1
Лиственница	23,1 ... 24,5	39,5...45,8
Береза	19,5 ... 23,8	31,0...45,8
Дуб	22,5	37,1
Можжевельник	<u>21,7 (35,18)</u>	<u>48,3</u>
	28,6 ... 34,2	36,4 ... 47,0

Примечание: В знаменателе приведены экспериментальные данные.

Таблица 2

## Характеристика образцов древесины можжевельника обыкновенного

Климатическая зона	Содержание, % к а.с.д.		
	Лигнин	Целлюлоза	Экстрактивные вещества
Тундра	29,2 ... 34,2	36,4 ... 38,6	2,8... 6,4
Северная тайга	29,5 ... 33,5	39,3 ... 47,0	2,8 ... 7,5

Ранее отмечалось, что процесс биосинтеза клеточной стенки, а значит, и количественное соотношение основных компонентов древесины даже одной и той же породы не является строго постоянным и меняется в зависимости от ряда факторов. Температура (неотъемлемая составляющая климата) определяет длину вегетационного периода, влияет на рост дерева в высоту и толщину. Это, в свою очередь, влияет на строение и свойства древесины и ее компонентов (табл. 2).

Продолжительность периода вегетации в совокупности с освещенностью определяет интенсивность процессов не только фотосинтеза, но и образования субстратов основных компонентов древесины. По завершению формирования оболочки клетки в камбиальном слое начинается утолщение клеточной стенки (синтез углеводов) и отложение лигнина, причем формирование последнего идет с запозданием. Таким образом, можно предположить, что длина вегетационного периода в первую очередь определяет ход образования углеводной составляющей древесного вещества.

Как видно из табл. 2, более «мягкие» климатические условия зоны северной тайги позволяют преобладать протеканию биосинтеза целлюлозы, что отражается в ее повышенном содержании (в среднем 43,0 %) по сравнению с образцами зоны тундры (в среднем 37,2 %) при относительном равенстве лигнинной составляющей (соответственно 30,7 и 31,6 %).

Можно предположить, что для лигнинной составляющей древесины можжевельника определяющим фактором является возраст (рис. 3). Как видно из

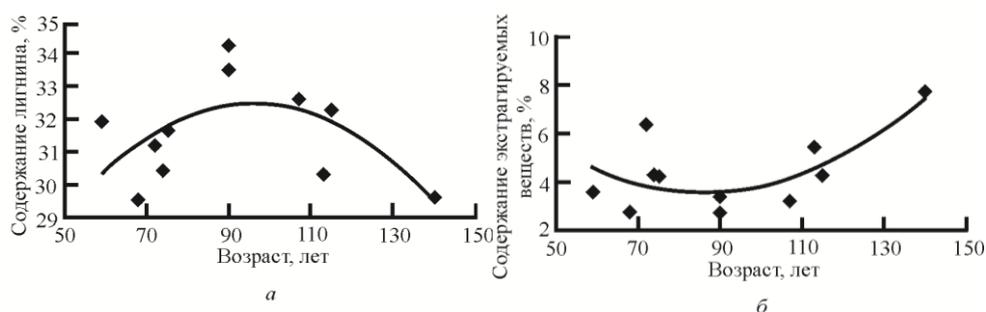


Рис. 3. Возрастная изменчивость содержания некоторых компонентов в древесине можжевельника: а – лигнин, б – вещества, экстрагируемые этанолом

графиков возрастной изменчивости содержания лигнина и веществ, экстрагируемых этанолом, в процессе роста и развития можжевельниковых деревьев в условиях Европейского Севера идет активный процесс лигнификации. По достижении возраста 90 ... 110 лет наблюдается снижение общего содержания лигнина, при этом запас экстрактивных веществ в древесине резко повышается. По-видимому, это связано с нарушением окислительно-восстановительного баланса и преобладанием окислительных и дегидрогенизационных процессов, а также с образованием хинонных форм и повышением термодинамической неравномерности в древесной матрице при достижении можжевельником возраста зрелой древесины.

Данную тенденцию подтверждает активность пероксидазы хвои можжевельника (рис. 4). Субстраты пероксидазы являются интермедиатами различных метаболических цепей, что позволяет рассматривать данный фермент как один из ключевых, изменение физико-химических свойств которого существенно влияет на метаболизм растительного организма.

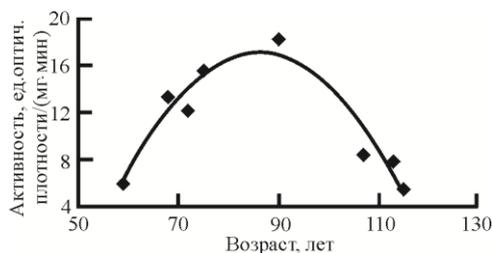


Рис. 4. Возрастная изменчивость активности пероксидазы хвои можжевельника

Активирование пероксидазы — характерная ответная реакция растений, обеспечивающая нормальный ход окислительных процессов.

Таким образом, схожий характер возрастной изменчивости содержания лигнина и активности пероксидазы хвои свидетельствует о тесной взаимосвязи растительных пероксидаз различных частей высших растений. Данный параметр может служить маркером процесса биосинтеза лигнина, а также косвенным показателем количественного изменения его содержания в жизненном цикле можжевельника обыкновенного.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Блансей А, Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. М.: Мир, 1977. 297 с.
2. Боголицын К.Г., Резников В.М. Химия сульфитных методов делигнификации. М.: 1994. 420 с.
3. Браунс Ф.Э., Браунс Д.А. Химия лигнина / пер. с англ. М.: Лесн. пром-сть, 1964. 864 с.
4. Горшкова Т.А. Биогенез растительных волокон. М.: Наука, 2009. 264 с.
5. Никитин Н.И. Химия древесины и целлюлозы. М.: АН СССР, 1962. 711 с.
6. Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.Л. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М.: Экология, 1991. 320 с.
7. Рогожин В.В. Пероксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов. СПб.: ГИОРД, 2004. 210 с.
8. Сарканен К.В. Лигнины (структура, свойства, реакции) / под ред. К.В. Сарканена, К.Х. Людвига; пер с англ. под ред. В.М. Никитина. М., 1975. 632 с.
9. Структурно-функциональные особенности изопероксидаз растений / Максимов И.В. [и др.] // Биохимия. 2011. Т. 76, Вып. 6. С. 749–763.
10. Физическая химия лигнина: монография / К.Г. Боголицын [и др.]; под ред. К.Г. Боголицына, В.В. Лунина. М.: Академкнига, 2010. 492 с.
11. Bergmeyer H.U. Methods of Enzymatic Analysis. I Academic Press New York, 2nd Edition, 1974. 495 p.
12. Fry S.C. Formation of isodityrosine by peroxidase isozymes // J. Exp. Bot, 1987. D. 38, N 3 P. 853–859.
13. MacAdam J.N. Peroxidase activity and termination of cell elongation in tall fescue leaf blades // J. Cell. Biochem. 1993. Suppl. 17A. P. 29.
14. Pan-Arctic variation in *Juniperus communis* L.: historical biogeography based on DNA fingerprinting / Adams R.P. [et al] // Biochemical Systematic and Ecology. 2003. Vol. 31, N 2. P. 181–192.
15. Zimmerlin A., Waytaszek P., Boiwell G.P. Synthesis of dehydrogenation polymers of ferulic acid with high specificity by a purified cell-wall peroxidase from french bean (*Phaseolus vulgaris* L.) // Biochem. J. 1994. Vol. 229, N 3. P. 747–753.

*I.N. Zubov<sup>1</sup>, S.S. Khviyuzov<sup>1</sup>, M.A. Lobanova<sup>1</sup>, M.A. Guskova<sup>1</sup>, K.G. Bogolitsyn<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Institute of Ecological Problems of the North Ural Division of the Russian Academy of Science

<sup>2</sup>Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov

**Influence of Abiotic Factors on the Juniper Wood Lignocarbhydrate Matrix Formation**

The choice of the biological object has been grounded. Its chemical composition has been determined. The parameters of juniper needles peroxidase activity in different climatic zones of the European North have been evaluated. The age and zonal variability of the wood main components and peroxidase activity parameters have been set.

*Keywords:* juniper, cell wall, biosynthesis, lignocarbhydrate complex, enzymatic activity, peroxidase.

