

УДК 58.036:577/.112/. 152.1./19:582.542.11

ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРИ НА ПІГМЕНТНИЙ СКЛАД І ВМІСТ РОЗЧИННИХ БІЛКІВ У КОНТРАСТНИХ ЗА ОЗНАКОЮ ТЕРМОСТІЙКОСТІ СОРТІВ ПШЕНИЦІ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Л.М. БАБЕНКО

*Институт ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України
01601 Київ, вул. Терещенківська, 2
e-mail: lilia.babenko@gmail.com*

Досліджено вплив короткотривалих теплового (2 год, +40 °С) і холодового (2 год, +4 °С) стресів на пігменти й розчинні білки 7- і 14-добових проростків контрастних за ознакою термостійкості сортів пшениці (*Triticum aestivum* L.). Виявлено специфічні ознаки в реакції пігментного комплексу і розчинних білків, які залежали від сорту і віку проростків. У морозостійкого сорту Володарка після холодового стресу співвідношення хлорофілів *a* і *b* збільшувалось, тоді як у жаростійкого сорту Ятрань 60, навпаки, зменшувалось. У сорту універсального використання Подолянка це співвідношення незначно зменшувалось. Зміни пігментного складу і вмісту розчинних білків узгоджувались з ознакою термостійкості сортів, що дає підставу розглядати їх як потенційні біомаркери в біотехнологічних розробках, спрямованих на підвищення стресостійкості культурних рослин.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., пігменти, розчинні білки, температура.

У процесі життєдіяльності на рослини впливають різноманітні чинники навколишнього середовища. Деякі з них залежно від інтенсивності і тривалості можуть бути стресорами. Температура як один із вирішальних екологічних чинників впливає на чисельність, різноманіття і поширення видів рослин у різних географічних широтах. Гіпо- і гіпертермія зумовлюють дестабілізацію метаболічних процесів. Учені вважають, що первинні реакції на стресор забезпечують короткочасний захист рослини, а в подальшому сприяють формуванню механізмів спеціалізованої адаптації [2–4, 6].

Розрізняють три стадії формування адаптаційного синдрому: тривоги; резистентності (опору); виснаження. Саме на стадії тривоги формується первинна відповідь. В адаптаційних реакціях рослин безпосередньо задіяні метаболічні зміни пігмент-білкового комплексу фотосинтетичних мембран [2, 4, 6, 7, 10].

Пігментний комплекс вищих рослин об'єднує хлорофіли і каротиноїди, локалізовані в тилакоїдах гран. Пігментна система рослин забезпечує перетворення сонячної енергії на енергію хімічних зв'язків [13].

Абсолютний вміст пігментів та їх співвідношення у будь-якого виду рослин не є сталими величинами. Вони можуть змінюватись у широких межах залежно від умов середовища, зокрема від інтенсивності та спектрального складу світла, температури, умов живлення тощо [1].

Оптимальною температурою вважають таку, за якої фотосинтез досягає 90 % своєї максимальної інтенсивності. Температура повітря до 25—35 °С позитивно впливає на перебіг фотосинтезу, проте в разі перевищення цього показника через перегрівання листків інтенсивність фотосинтезу знижується. Для більшості рослин помірної зони оптимальна температура становить 20—25 °С. Однак для кожного виду рослин температурний оптимум фотосинтезу не є сталою величиною. Він залежить від зовнішніх умов і може змінюватися впродовж онтогенезу [8, 9].

Оскільки фотосинтетичні пігменти розглядають як одні з перших мішеней стресорного впливу, метою цієї роботи було визначення впливу короткотривалих теплового й холодового стресів на вміст і співвідношення фотосинтетичних пігментів та розчинних білків у різних за ознакою термостійкості сортів *Triticum aestivum* L.

Ми виходили з припущення, що абсолютний вміст пігментів та їх співвідношення у першу стадію тривоги після дії стресора корелюють з ознакою термостійкості й у подальшому можуть слугувати маркерами під час скринінгу і створення стійких сортів озимої пшениці, а також у біотехнологічних розробках, спрямованих на підвищення стресостійкості рослин.

Методика

Об'єктом досліджень були рослини нових сортів озимої пшениці вітчизняної селекції Володарка, Ятрань 60, Подолянка. Сорт Володарка належить до короткостеблових пшениць високоінтенсивного типу, морозо- та посухостійкий, стійкий до вилягання, екологічно пластичний, вирощується в Лісостеповій та Поліській зонах. Є принципово новим селекційним продуктом, його створено з використанням методу хромосомної інженерії, він містить у геномі пшенично-житню транслокацію. Сорт Ятрань 60 належить до короткостеблових, середньоранніх сортів інтенсивного типу. Рекомендований для вирощування у зонах Лісостепу, Полісся та Степовій зоні України. Стійкий до вилягання, характеризується високими жаро- і посухостійкістю. Сорт Подолянка — середньорослий, інтенсивного типу, універсального використання. Має високі зимо- та посухостійкість. Оригінаторами цих сортів є Інститут фізіології рослин і генетики НАН України та Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла НААН України [8].

Відкаліброване насіння перед висіванням стерилізували, як описано раніше [12]. Для створення умов теплового й холодового стресів проростки піддавали короткотривалий (упродовж 2 год) дії температур +40 і +4 °С. Розчинні білки виділяли за методом [7].

Фотосинтетичні пігменти екстрагували ацетоном і визначали за методом [14]. Досліди проводили в двох біологічних та трьох аналітичних повторностях. Відмінності обговорюються за рівня $p \leq 0,05$ відповідно до критерію Стьюдента. У таблиці й на діаграмах наведено середньоарифметичні значення та їх стандартні похибки.

Результати та обговорення

Однією з характеристик холодостійкості зернових культур є здатність до накопичення під впливом низької температури розчинних білків. Виявлено, що під дією стресових температур озимі сорти пшениці накопичують розчинні білки активніше, ніж ярі [9]. Встановлено кореляцію між стійкістю видів різних екологічних стратегій та особливостями накопи-

чення розчинних білків. Так, показано, що короткотривалі тепловий і холодний стреси спричинювали зростання вмісту розчинних білків у надземній частині проростків віоленту костриці лучної *Festuca pratensis* Huds. і пацієнта шавнату *Rumex patientia* L. × *R. tianshanicus* A. Los. [7].

У контрольному варіанті вміст розчинних білків у надземній частині 14-добових проростків морозостійкого сорту Володарка був вищим, ніж у 7-добових. Така ж картина спостерігалась для інших досліджуваних сортів. Після короткотривалих температурних стресів вміст розчинних білків у надземній частині 7-добових проростків сорту Володарка зростає, тоді як у 14-добових після холодного стресу зменшувався, а після теплового — незначно зростає (рис. 1). У відповідь на тепловий стрес вміст розчинних білків у надземній частині 7-добових проростків жаростійкого сорту Ятрань 60 дещо підвищувався, у відповідь на холодний — знижувався. Після теплового й холодного стресів у 14-добових

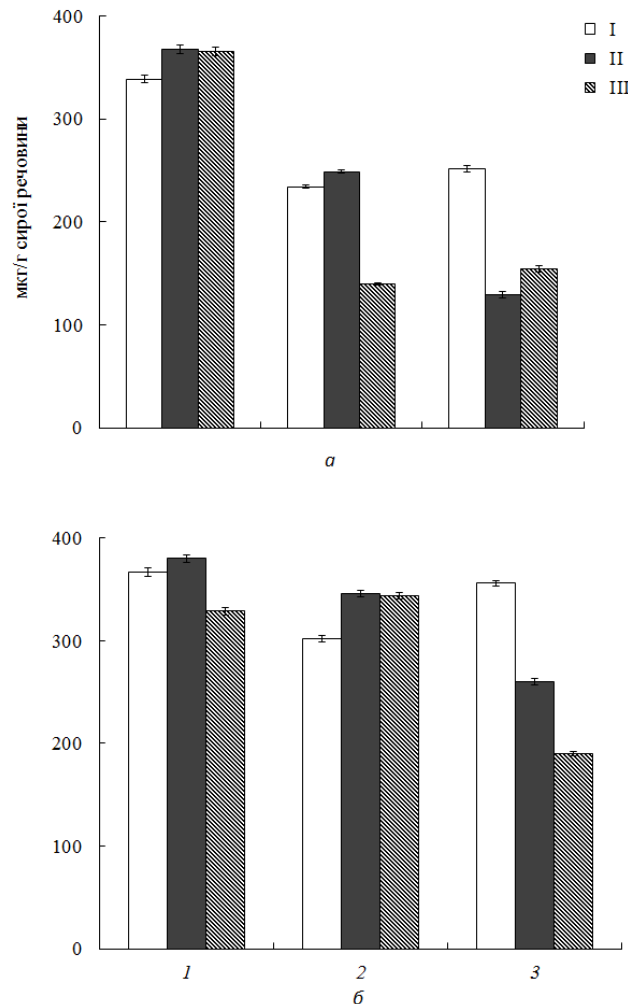


Рис. 1. Вміст розчинних білків у надземній частині 7- (а) і 14-добових (б) проростків пшениці різних сортів у контролі й після дії короткотривалих температурних стресів (мкг/г сирої речовини):

1 — Володарка; 2 — Ятрань; 3 — Подолянка; I — контроль (+24 °C); II — тепловий стрес (+40 °C); III — холодний стрес (+4 °C)

проростках вміст розчинних білків зростає (див. рис. 1). У надземній частині 7- і 14-добових проростків універсального сорту Подолянка вміст розчинних білків після короткотривалих температурних стресів істотно зменшувався (див. рис. 1). Отже, температурні стреси супроводжувались специфічними змінами вмісту розчинних білків, які залежали від сорту і віку проростків, а також від виду стресу.

Успішність адаптації до дії стресорів у рослин великою мірою залежить від оптимального функціонування асиміляційного апарату, одним із показників стану якого є вміст і співвідношення фотосинтетичних пігментів [5, 9, 11, 12]. Встановлено, що в контрольних умовах вміст хлорофілів і каротиноїдів у 14-добових проростках сорту Володарка порівняно із 7-добовими зростає (рис. 2, таблиця).

Відомо, що збільшення вмісту фотосинтетичних пігментів супроводжується підвищенням інтенсивності фотосинтезу, внаслідок чого збільшується приріст вегетативної маси рослин [9]. У 7-добових проро-

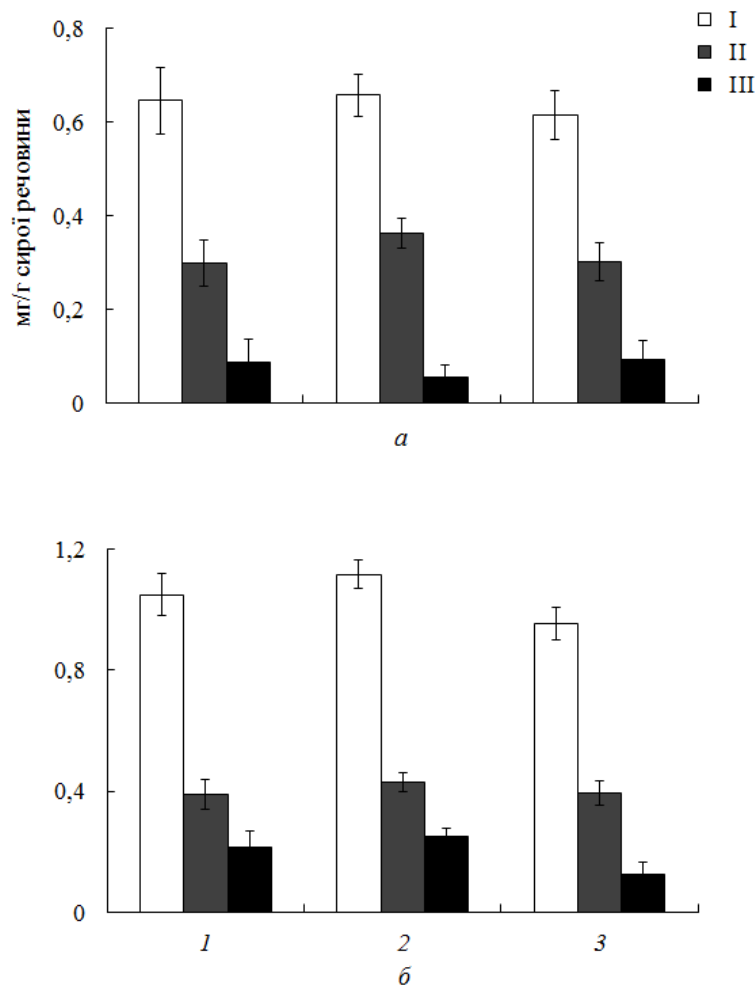


Рис. 2. Вплив температури на вміст пігментів у 7- (а) і 14-добових (б) проростках сорту Володарка (мг/г сирої речовини). Тут і на рис. 3, 4:

1 — контроль (+24 °C); 2 — +40 °C, 2 год; 3 — +4 °C, 2 год; I — хлорофіл а; II — хлорофіл б; III — каротиноїди

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ

*Вплив температури на співвідношення фотосинтетичних пігментів у проростках *Triticum aestivum* L.*

Варіант	Співвідношення хлорофілів <i>a/b</i>	Сума хлорофілів <i>a+b</i>	Співвідношення хлорофіли <i>a+b</i> /каротиноїди
Сорт Володарка			
Контроль 7 діб	2,16	0,94	10,9
+4 °С, 2 год	2,03	0,926	9,9
+40 °С, 2 год	1,81	1,02	18,5
Контроль 14 діб	2,13	1,15	8,3
+4 °С, 2 год	2,97	1,14	9,1
+40 °С, 2 год	2,34	1,10	6,7
Сорт Ятрань 60			
Контроль 7 діб	2,96	0,966	6,571
+4°С, 2 год	2,99	1,171	7,184
+40 °С, 2 год	3,71	0,819	5,978
Контроль 14 діб	2,73	1,43	6,43
+4°С, 2 год	2,42	1,35	10,69
+40 °С, 2 год	2,60	1,56	6,21
Сорт Подолянка			
Контроль 7 діб	2,40	1,1	7,99
+4 °С, 2 год	2,10	0,94	10,2
+40 °С, 2 год	2,05	0,95	7,93
Контроль 14 діб	2,32	1,41	8,81
+4°С, 2 год	2,02	0,89	8,92
+40 °С, 2 год	2,24	1,06	7,91

стках після холодного стресу неістотно зменшувалась кількість хлорофілу *a*, після теплового — збільшувався вміст хлорофілу *b* і зменшувалась кількість каротиноїдів (див. рис. 2, *a*), співвідношення хлорофіли *a+b*/каротиноїди після теплового стресу зростало з 10,9 до 18,5 (див. таблицю). У 14-добових проростках холодний стрес спричинював зменшення кількості хлорофілу *a* і каротиноїдів, співвідношення хлорофілів *a/b* збільшувалося з 2,13 до 2,97 (див. рис. 2, *b*, таблицю). Тепловий стрес супроводжувався збільшенням кількості каротиноїдів і зменшенням співвідношення хлорофіли *a+b*/каротиноїди з 8,3 до 6,8. Збільшення співвідношення хлорофілів *a/b* після холодного стресу було властивим морозостійкому сорту Володарка (див. таблицю).

У 14-добових проростках жаростійкого сорту Ятрань 60 порівняно із 7-добовими також встановлено зростання вмісту хлорофілів і каротиноїдів за контрольних умов (рис. 3). Однак реакція рослин на температурні стреси дещо відрізнялась від такої у сорту Володарка. Так, виразніші зміни зафіксовано в пігментному комплексі 7-добових проростків, причому холодний стрес супроводжувався зростанням вмісту хлорофілів і каротиноїдів, тоді як тепловий, навпаки, викликав певне зменшення кількості пігментів (див. рис. 3, *a*). У 14-добових проростках після короткотривалого холодного стресу вміст пігментів змен-

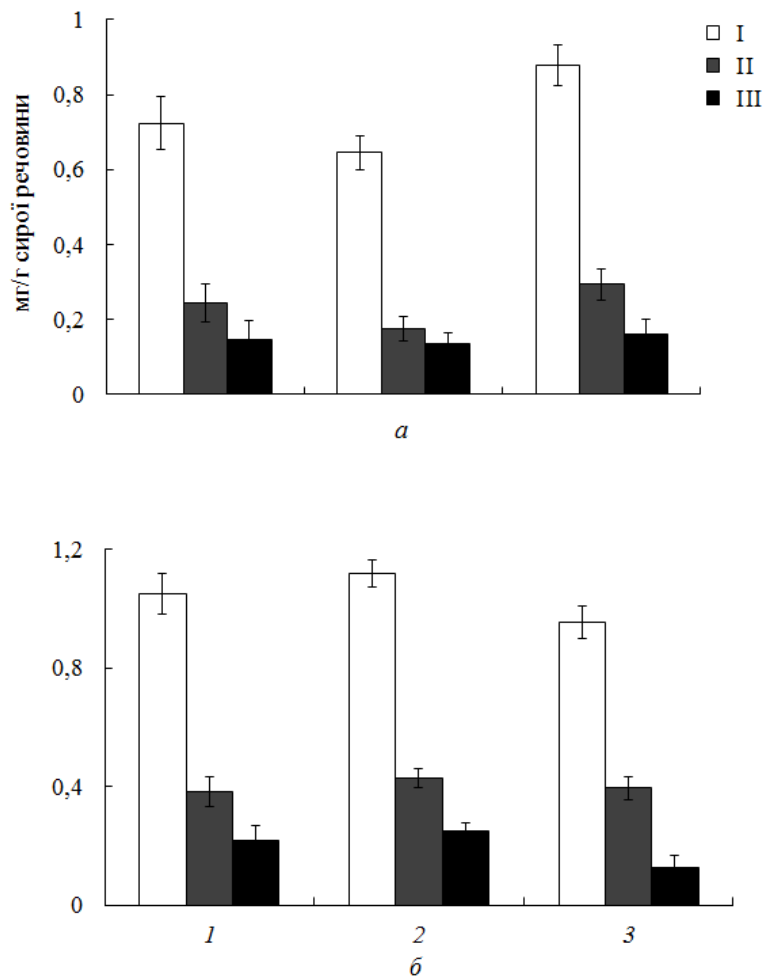


Рис. 3. Вплив температури на вміст пігментів у 7- (а) і 14-добових (б) проростках сорту Ят-рань 60 (мг/г сирої речовини)

шувався, а після теплового кількості хлорофілів і каротиноїдів зростали (див. рис. 3, б). Співвідношення хлорофіли $a+b$ /каротиноїди особливо сильно збільшувалось після холодного стресу у 14-добових проростках (див. таблицю). Позитивний ефект теплового стресу на вміст пігментів у 14-добових проростках збігався з ознакою жаростійкості. Збільшення співвідношення хлорофілів, виявлене після теплового стресу у 7-добових проростках, відповідало жаростійкості сорту.

У сорту Подолянка, що належить до сортів універсального використання, вміст хлорофілів і каротиноїдів у 14-добових проростках зростав порівняно із 7-добовими за контрольних умов (рис. 4), як у сортів Ят-рань 60 і Володарка (див. рис. 2, 3). Проростки сорту Подолянка виявились чутливішими до теплового і холодного стресів порівняно з іншими дослідженими сортами: як у 7-, так і 14-добових проростках вміст хлорофілів і каротиноїдів після дії високої й низької температури зменшувався (див. рис. 4). Температурний стрес впливав на співвідношення хлорофілів a/b . Так, у 7-добових проростків воно зменшувалось з 2,4 до 2,1 за $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ й до 2,05 за $+40\text{ }^{\circ}\text{C}$, у 14-добових — з 2,3 до 2,0 за $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ та

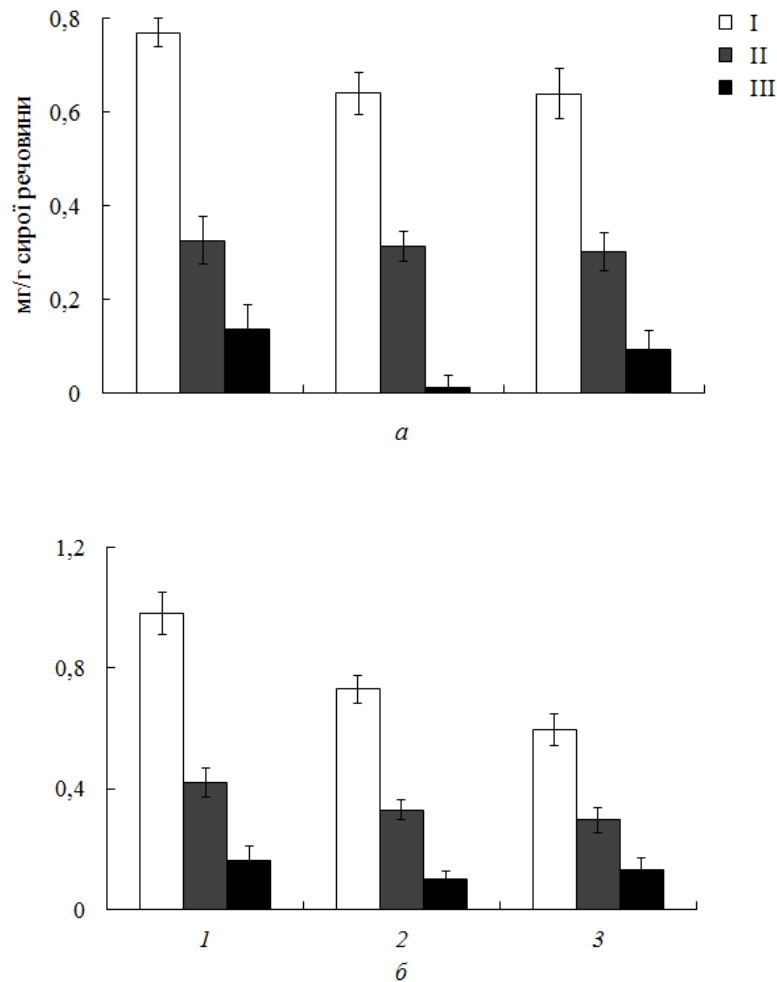


Рис. 4. Вплив температури на вміст пігментів у 7- (а) і 14-добових (б) проростках сорту Подолянка (мг/г сирої речовини)

до 2,2 за +40 °С. Проте в умовах холодного стресу в 7-добових проростках співвідношення хлорофілів $a+b$ /каротиноїди зростало з 7,99 до 10,2, у 14-добових проростків такі зміни були менш виразними (див. таблицю).

Отже, в результаті проведених досліджень встановлено, що вміст пігментів та білків у проростках контрастних за ознакою термостійкості сортів озимої пшениці реагує на зміну температурного режиму, що опосередковано вказує на їх участь у формуванні початкової реакції на стресорні впливи. У жаростійкого сорту Ятрань 60 після короткотривалого охолодження співвідношення хлорофілів a/b зменшувалось, у морозостійкого сорту Володарка збільшувалось, що узгоджується з ознакою термостійкості досліджених сортів. Водночас у сорту Подолянка, який належить до сортів універсального використання, співвідношення хлорофілів a/b зменшувалось незначно. Абсолютний вміст пігментів, їх співвідношення та кількісні зміни вмісту розчинних білків у першу стадію

тривоги після дії стресора можуть слугувати маркерами у біотехнологічних розробках, спрямованих на підвищення стресостійкості рослин.

Автор щиро вдячний академіку НАН України В.В. Моргуну за надання насінневого матеріалу для проведення фізіолого-біохімічних досліджень і наукові консультації при обговоренні результатів.

Публікація містить результати досліджень, проведених при грантовій підтримці Державного фонду фундаментальних досліджень за конкурсним проектом Ф64/23-2015.

1. Андрианова Ю.Е., Тарчевский И.А. Хлорофилл и продуктивность растений. — М.: Наука, 2000. — 135 с.
2. Гродзинский Д.М. Адаптивная стратегия физиологических процессов растений. — Киев: Наук. думка, 2013. — 304 с.
3. Дубровна О.В., ЧуGUNкова Т.В., Бавол А.В., Лялько І.І. Біотехнологічні та цитогенетичні основи створення рослин, стійких до стресів. — К.: Логос, 2012. — 425 с.
4. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессов. — Киев: Основа, 2010. — 352 с.
5. Косаківська І.В., Бабенко Л.М., Скатерна Т.Д., Устинова А.Ю. Вплив гіпо- і гіпертермії на активність ліпоксигенази, вміст пігментів і розчинних білків у проростках *Triticum aestivum* L. сорту Ятрань 60 // Физиология растений и генетика. — 2014. — **46**, № 3. — С. 212–220.
6. Косаківська І.В. Фізіолого-біохімічні основи адаптації рослин до стресів. — К.: Сталь, 2003. — 191 с.
7. Косаковская И.В., Климчук Д.А., Блюма Д.А. и др. Влияние температурных стрессов на белки и ультраструктуру растений с разными типами экологических стратегий // Вісн. Харків. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. — 2010. — Вип. 1 (19). — С. 34–43.
8. Моргун В.В., Санін Є.В., Швартау В.В. Клуб 100 центнерів. — К.: Логос, 2008. — 87 с.
9. Моргун В.В., Швартау В.В., Кірізій Д.А. Фізіологічні основи отримання високих урожаїв озимої пшениці // Физиология и биохимия культ. растений. — 2008. — **40**, № 6. — С. 463–479.
10. Пятыхин С.С. Стресс у растений: физиологический подход // Журн. общей биологии. — 2008. — **69**, № 4. — С. 294–311.
11. Шадчина Т.М. Функціональні характеристики фотосинтетичного апарату сучасних сортів озимої пшениці // Физиология и биохимия культ. растений. — 2010. — **42**, № 4. — С. 339–347.
12. Babenko L., Kosakivska I., Akimov Yu. et al. Effect of temperature stresses on pigment spectrum, lipoxygenase activity and cell ultrastructure of winter wheat seedling // Gen. Plant Physiol. — 2014. — **4** (1–2). — P. 117–125.
13. Stumskaya M., Wurtzela E. The carotenoid biosynthetic pathway: thinking in all dimensions // Plant Sci. — 2013. — **208**. — P. 182–193.
14. Wellburn A. The spectral determination of chlorophyll *a* and chlorophyll *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution // J. Plant Physiol. — 1994. — **144**. — P. 307–313.

Отримано 17.09.2015

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ РАСТВОРИМЫХ БЕЛКОВ У КОНТРАСТНЫХ ПО ПРИЗНАКУ ТЕРМОСТОЙКОСТИ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Л.М. Бабенко

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного Национальной академии наук Украины, Киев

Исследовано влияние краткосрочных теплового (2 ч, +40 °С) и холодного (2 ч, +4 °С) стрессов на пигменты и растворимые белки 7- и 14-суточных проростков контрастных по признаку термостойкости сортов пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Выявлены специфические признаки в реакции пигментного комплекса и растворимых белков, которые зависели от сорта и возраста проростков. У морозостойкого сорта Володарка после холодного стресса соотношение хлорофиллов *a* и *b* увеличивалось, тогда как у жаростойкого сорта Ятрань 60,

наоборот, уменьшалось. У сорта универсального использования Подолянка это соотношение незначительно уменьшалось. Изменения пигментного состава и содержания растворимых белков согласовывались с признаком термостойкости сортов, что дает основание рассматривать их в качестве потенциальных биомаркеров в биотехнологических разработках, направленных на повышение стрессоустойчивости культурных растений.

THE INFLUENCE OF TEMPERATURE ON PIGMENT COMPOSITION AND SOLUBLE PROTEIN CONTENT OF WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) VARIETIES WITH CONTRAST THERMOSTABILITY

L.M. Babenko

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine
2 Tereshchenkivska St., Kyiv, 01601, Ukraine

The effect of short-term heat (2 hrs, +40 °C) and cold (2 hrs., +4 °C) temperature stress on pigments and soluble proteins contents of 7- and 14-day-old seedlings of contrast on heat resistance wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) has been investigated. It is shown that pigment complex actively responds to changes in temperature. In cold-resistant variety Volodarka after cold stress the ratio of chlorophyll *a* and *b* increased, while in the heat-resistant variety Yatran 60, by contrast, decreased. The universal variety Podolyanka occurred a slight decrease in the ratio of chlorophylls *a/b*. It was established that changes in pigment composition and content of soluble proteins corresponded with thermotolerance that allows to consider them as potential biomarkers in biotechnology investigations aimed to improving stress resistance of agricultural plants.

Key words: *Triticum aestivum* L., pigments, soluble proteins, temperature.