

УДК 581.1:58.02+58.009

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК МІЖ ВМІСТОМ ВІЛЬНОГО ПРОЛІНУ, РОЗЧИННИХ ЦУКРІВ ТА ОБВОДНЕНІСТЮ ТКАНИН У РОСЛИНАХ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ПРОТЯГОМ ОСІННЬО-ЗИМОВОГО ПЕРІОДУ

П.С. МАЙОР

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17*

Проаналізовано взаємозв'язок між вмістом у рослинах вільного проліну, редукуючих цукрів та часткою сухої речовини протягом осінньо-зимового періоду на підставі даних, отриманих для 28 генотипів озимої пшениці в трирічному вегетаційному досліді. Виявлено часові зсуви між змінами температурного чинника та дослідженими показниками. Встановлено, що частка сухої речовини негативно корелює з температурою, тоді як для вмісту цукрів і проліну спостерігаються нелінійні залежності від температурного чинника. Хоча між збільшенням частки сухої речовини та накопиченням проліну існує помірна кореляція, вміст цієї амінокислоти більшою мірою визначається дією морозів на рослини, ніж спричиною низькими температурами втратою води тканинами.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., низькі температури, морозостійкість, пролін, цукри.

Сорти озимої пшениці характеризуються вищою врожайністю порівняно з ярими сортами. Однак необхідною умовою цього є успішна (без загибелі та значних пошкоджень) зимівля рослин упродовж дії комплексу негативних чинників, серед яких найбільше значення має тривалий вплив низьких температур. Дія холоду на рослини восени спричинює виникнення компенсаторних й адаптивних реакцій в їх клітинах, що призводять до зміни низки фізіологічних, генетичних і біохімічних процесів, які зумовлюють процес загартування до низьких температур [4, 6, 8, 9].

Під час загартування у клітинах рослин відбувається індукований холодом синтез певних білків, змінюється ліпідний склад мембран, зростає вміст водорозчинних вуглеводів, зокрема цукрози, накопичуються інші захисні речовини, у тім числі пролін [4, 6—10]. Розчинні цукри та вільний пролін — сумісні осмотично активні сполуки, що відіграють особливу роль у підтриманні гомеостазу рослинних клітин за умов втрати ними води, яка відбувається за низьких температур. Однак якщо значення підвищеного вмісту цукрів у забезпеченні морозостійкості рослин не викликає сумнівів, то ситуація щодо проліну менш визначена — збільшення його кількості може бути як наслідком впливу температурного чинника, так і реакцією на втрату води клітинами за дії морозів [4].

У наших попередніх працях представлено результати вивчення динаміки обводненості тканин, вмісту вільного проліну [2] та розчинних цукрів [3] у рослинах озимої пшениці різних генотипів протягом осін-

ньо-зимового періоду, однак значний обсяг отриманих даних не дав змоги детально їх проаналізувати та узагальнити для встановлення можливого зв'язку між дослідженими показниками.

Тому метою цієї роботи був аналіз масиву експериментальних даних, отриманих у вегетаційних дослідах 2006/7—2008/9 рр., та виявлення взаємозв'язку між вмістом вільного проліну, редукуючих цукрів і часткою сухої речовини в рослинах озимої пшениці протягом осінньо-зимового періоду. В роботі опрацьовано результати вегетаційних дослідів, де виключається такий чинник зимівлі, як наявність снігового покриву, котрий значно ускладнює отримання надійних результатів та їхню інтерпретацію.

Методика

Об'єктами дослідження були 28 генотипів озимої м'якої пшениці, що різнилися за морозостійкістю — 21 сорт і 7 ліній. Детальніше досліджувані генотипи та умови вирощування рослин описано раніше [2].

Протягом періоду загартування і перезимівлі впродовж трьох вегетаційних сезонів 2006/7—2008/9 рр. приблизно один раз на тиждень з листопада до середини—кінця лютого відбирали проби надземної частини рослин, в яких визначали частку сухої речовини, а також вміст вільного проліну і сумарний вміст розчинних редукуючих цукрів у розрахунку на суху речовину [2, 3].

Дані щодо температури повітря протягом періоду досліджень отримано з інтернет-сайту Gismeteo (архів погодних даних для м. Києва <http://gismeteo.ua/synarc.htm>).

Аналіз та статистичну обробку експериментальних даних проводили на комп'ютері у середовищі електронних таблиць Microsoft Excel з використанням програмного забезпечення AtteStat (версія 12) (сайт програми <http://attestatsoft.narod.ru>). Обчислювали парні, часткові і множинні коефіцієнти лінійної кореляції та їх стандартні похибки, а також коефіцієнти детермінації R^2 (піднесені до квадрату коефіцієнти кореляції — для лінійних залежностей або кореляціне відношення — для нелінійних), які є показником достовірності апроксимації. Значущість коефіцієнтів визначали за допомогою t -критерію Стьюдента або F -критерію Фішера [1]. Використання коефіцієнта кореляції Пірсона виправдане лише тоді, коли спільний розподіл пари кількісних ознак відповідає двовимірному нормальному розподілу, тому перед обчисленням коефіцієнта кореляції виконували перевірку нормальності двовимірних вибірок.

Результати та обговорення

Температура середовища — один із головних екологічних чинників, який впливає на життєдіяльність і поширення рослин. Вона відрізняється дуже високою мінливістю — може змінюватися впродовж годин і навіть хвилин, для неї характерні добові, сезонні, річні коливання. Рослини, температура яких зазвичай відповідає температурі навколишнього середовища, мусять пристосовуватися до коливань цього чинника [4]. У роки проведення досліджень відбувались суттєві зміни температури упродовж зимового періоду, які детально описані нами раніше [2].

На початковому етапі аналізу отриманих даних припускали, що визначальним чинником, який впливає на досліджувані показники рослин, є середньодобова температура попередньої доби (що закінчилась за 11

год до відбору зразків). Графічне зображення динаміки середньодобової температури попередньої доби для кожного року експериментів загалом є подібним до наведених раніше [2], проте хід цієї температурної кривої більш плавний, оскільки через відносно великий інтервал між відліками (відборами зразків раз на тиждень) вона позбавлена короткочасної добової компоненти. Значна варіабельність температури впродовж тижневого періоду не дає змоги ефективно застосовувати методи аналізу числових рядів, якими є експериментальні дані. З іншого боку, можна очікувати, що зміни досліджуваних показників у відповідь на мінливість температурного чинника не будуть відбуватись надто швидко, відображаючи таким чином передісторію впливу температури на рослини. Тому ми застосували методи класичного кореляційного аналізу, поставивши за мету порівняти коефіцієнти кореляції між множиною пар окремих показників для встановлення між ними статистичних взаємозв'язків.

У табл. 1 узагальнено результати кореляційного аналізу середніх значень досліджуваних показників, обчислених для усіх генотипів, та температурного чинника. Як засвідчують отримані результати, тісний негативний зв'язок для всіх років досліджень існує між температурою та часткою сухої речовини. Між останнім показником та вмістом вільного проліну також наявна доволі тісна позитивна кореляція, що вказує на можливе накопичення цієї сполуки у відповідь на зневоднення тканин, яке відбувається при зниженні температури [2]. Графічне зображення цього зв'язку ілюструє рис. 1, де наведено коефіцієнт детермінації R^2 на основі трирічних даних, причому він є дещо нижчим, ніж для окремих

ТАБЛИЦЯ 1. Парні коефіцієнти кореляції між досліджуваними показниками рослин озимої пшениці і середньою температурою попередньої доби для трьох років експериментів

Показник	Показник		
	частка сухої речовини, %	пролін, мг/г сухої речовини	цукри, мг/г сухої речовини
2006/7 р.			
Пролін, мг/г сухої речовини	0,539*	1,000	0,137
Цукри, мг/г сухої речовини	0,170	0,137	1,000
Температура (–1 доба), °С	–0,766**	–0,738**	–0,288
2007/8 р.			
Пролін, мг/г сухої речовини	0,543*	1,000	0,414
Цукри, мг/г сухої речовини	0,239	0,414	1,000
Температура (–1 доба), °С	–0,594*	–0,181	–0,159
2008/9 р.			
Пролін, мг/г сухої речовини	0,541*	1,000	0,392
Цукри, мг/г сухої речовини	0,086	0,392	1,000
Температура (–1 доба), °С	–0,744**	–0,101	0,282
2006/7–2008/9 рр.			
Пролін, мг/г сухої речовини	0,469**	1,000	0,275
Цукри, мг/г сухої речовини	–0,008	0,275	1,000
Температура (–1 доба), °С	–0,684**	–0,236	0,088

П р и м і т к а. Тут і в табл. 2: * — значущість коефіцієнта на рівні 95 %, ** — 99 %.

років (див. відповідні коефіцієнти кореляції у табл. 1). Обчислювали також часткові коефіцієнти кореляції між досліджуваними показниками, які підтвердили тісний негативний зв'язок між часткою сухої речовини та вмістом вільного проліну за постійного значення вмісту розчинних цукрів.

Не виявлено значущого статистичного зв'язку температури ні з вмістом проліну (за винятком 2006/7 р., коли спостерігалось швидке накопичення цієї речовини у другій декаді лютого), ні з вмістом розчинних цукрів (див. табл. 1), що суперечить зробленим раніше висновкам [2, 3]. Ми припустили, що залежність мінливості цих сумісних осмотично активних сполук у відповідь на зміну температури може спостерігатись з затримкою, тобто, рівень цих речовин у тканинах рослин може визначатись температурним чинником не за попередню добу, а в більш віддалені строки. Для перевірки цієї гіпотези вираховували коефіцієнти парної кореляції між досліджуваними показниками (із використанням як середніх значень для групи генотипів, так і даних для окремих сортів і ліній) та середньодобовою температурою, визначеною більш ніж за 1 добу до дати відбору зразків рослин.

Як показали розрахунки, для графіків залежності коефіцієнтів кореляції від зсуву в часі відліку температури існують чіткі закономірності: зі зростанням аргументу спочатку спостерігається збільшення (за модулем) коефіцієнта, далі проявляється досить чіткий максимум, після чого відбувається відносно швидке зменшення коефіцієнта. Максимальні значення парного коефіцієнта кореляції між температурою та часткою сухої речовини визначені для зсуву температури в часі на 2–3 доби, тоді як для вмісту цукрів такий зсув становить 5–6 діб, а для вмісту проліну 7–11 діб. Зазначимо, що подібні результати отримані при обчисленні коефіцієнтів парної кореляції між досліджуваними показниками та середньодобовою температурою, визначеною на тридобовому інтервалі для відповідного зсуву в часі щодо дати відбору. У цьому разі графіки залежності коефіцієнтів кореляції від часового зсуву мали згладжений вигляд, однак позиції максимумів не змінювались.

Нами встановлено, що лінійна залежність досліджуваних показників від температурного чинника спостерігається лише для вмісту сухої речовини (рис. 2), причому експериментальні точки різних років належать одній генеральній су-

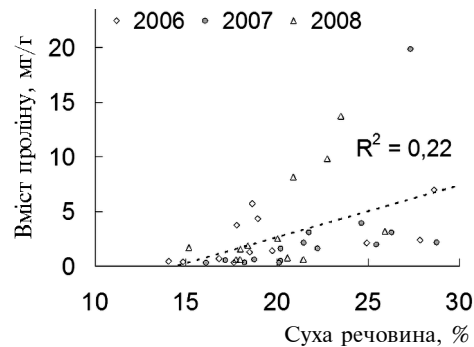


Рис. 1. Залежність вмісту проліну (мг/г сухої речовини) від частки сухої речовини у рослинах озимої пшениці. Тут і на рис. 2, 3: R^2 — коефіцієнт детермінації; числові позначення серій відповідають року проведення дослідів: 2006 — 2006/7 р., 2007 — 2007/8 р., 2008 — 2008/9 р.

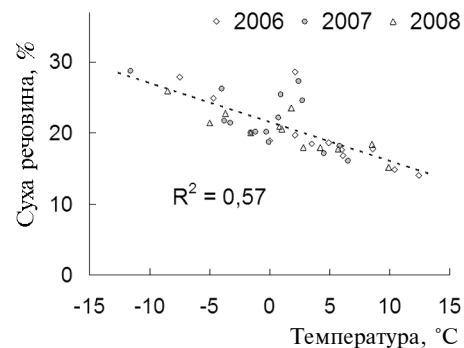


Рис. 2. Залежність частки сухої речовини у рослинах озимої пшениці від значення температури за 3 доби до відбору

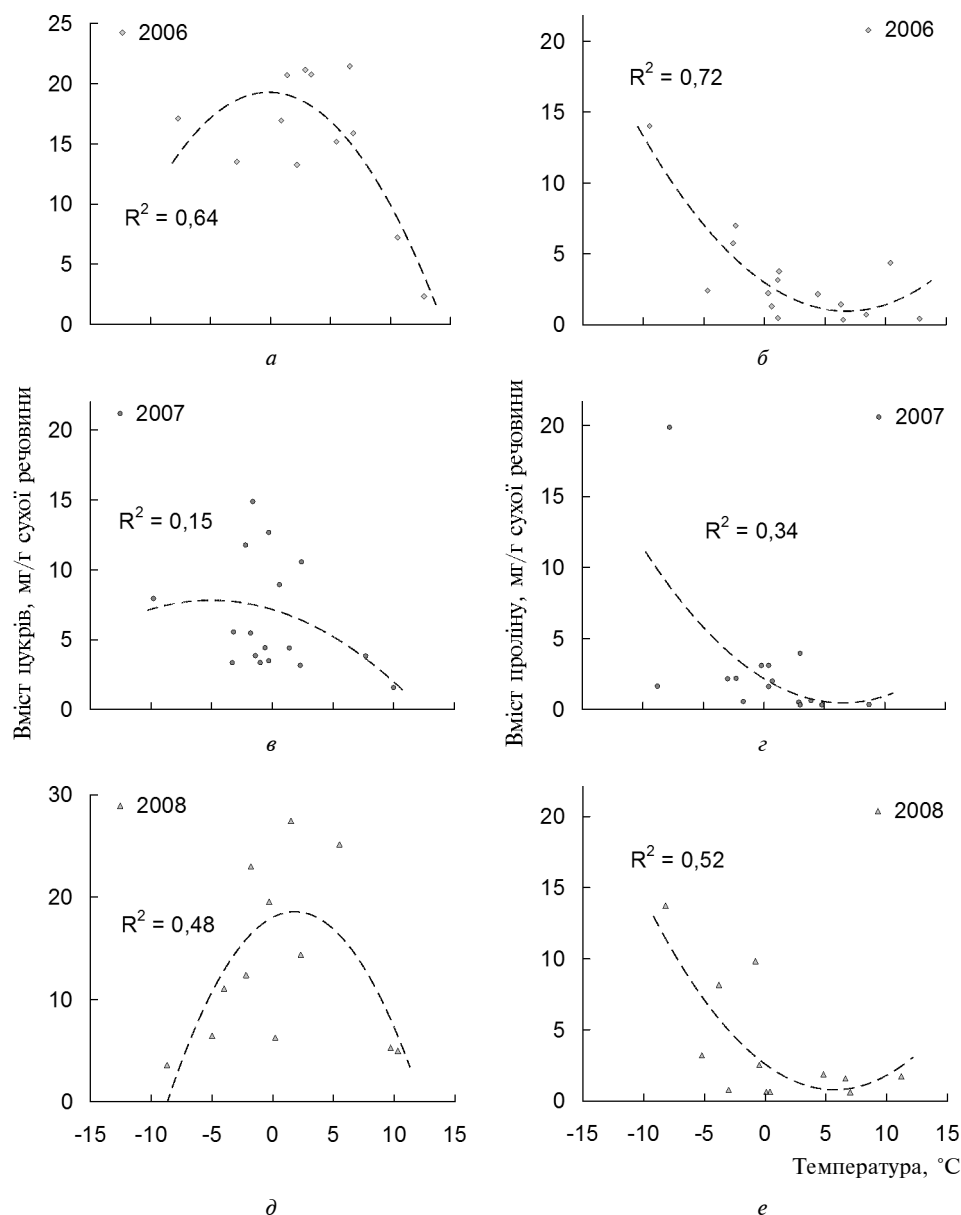


Рис. 3. Залежність вмісту суми розчинних цукрів, мг/г сухої речовини (*a*, *в*, *д*) та вмісту вільного проліну, мг/г сухої речовини (*б*, *г*, *е*) у рослинах озимої пшениці від середньодобового значення температури, відповідно, за 5–6 діб та 7–11 діб до відбору зразків рослин

купності двовимірної вибірки. Натомість для інших показників — вмісту цукрів та проліну спостерігаються нелінійні залежності, які дещо відрізняються за роками (рис. 3). У першому наближенні вони можуть бути апроксимовані параболою. При цьому, якщо вміст цукрів набуває максимальних значень близько 0 °C, то вміст проліну зростає при зниженні температури від 3–10 °C до мінусових значень. Очевидно, кращим вибором для апроксимації виявленої залежності вмісту цукрів від температурного чинника будуть функції, які не перетинають вісь абсцис як параболою, а асимптотично наближаються до неї. Відповідну залежність для проліну краще описує експоненціальна або гіперболічна крива.

На нашу думку, встановлені залежності є цілком логічними і не суперечать даним, опублікованим у попередніх працях [2, 3]. Дійсно, зниження температури спричинює зменшення обводненості тканин рослин, і те, що це відбувається із затримкою у 2–3 доби, визначається, по-перше, повільнішою кінетикою цього процесу, по-друге, може бути пов'язане зі змінами температури, які відбуваються в одному напрямку (збільшення чи зменшення) у середньому протягом 2–4 діб (див. [2], рис. 1–3). Відповідно затримку на 5–6 діб зміни вмісту редуруючих цукрів і на 7–11 діб зміни вмісту проліну у відповідь на зміну температури також можна пояснити тими самими причинами. Максимум вмісту цукрів за температури близько 0 °С (див. рис. 1, а, в, д) відображає добре відомий факт накопичення цукрів при загартуванні (перша фаза якого відбувається на світлі за знижених плюсових температур, друга — за незначних мінусових температур [4, 6, 8]). Натомість наші дані (див. рис. 1, б, г, е) свідчать про накопичення проліну за зниження температури від оптимального для перебігу першої фази загартування діапазону 3–10 °С. Менший (порівняно з проліном) часовий зсув відносно температури для цукрів та максимум залежності навколо 0 °С проявляється в тому, що їх кількість починає зростати раніше за настання холодів і змінюється з більшою амплітудою за помірних температур (що відповідає переважному перебігу зими у роки досліджень), тоді як вміст проліну змінюється досить плавно, «демпфуючи» осциляції температурного чинника (див. для порівняння [2 і 3], рис. 1–3).

Для визначення залежності вмісту вільного проліну і розчинних цукрів та частки сухої речовини у рослинах озимої пшениці від генотипу проведено відповідний кореляційний аналіз із визначенням коефіцієнтів на підставі середніх значень показників для кожного генотипу за весь період дослідження. Виявлено доволі тісний (значущість на рівні 95 %) негативний зв'язок між вмістом цукрів і часткою сухої речовини (коефіцієнти кореляції $-0,492\dots-0,600$) та між вмістом цукрів і вмістом проліну (коефіцієнти кореляції $-0,452\dots-0,501$). Між вмістом проліну і часткою сухої речовини коефіцієнти кореляції були позитивними, проте значущим був зв'язок між цими показниками лише у 2008 р. (коефіцієнт кореляції становив 0,661). Однак, як показав аналіз графічного подання цих залежностей, у двовимірних парних вибірках серед набору генотипів різко виділялась точка, що відповідає сорту Зимоярка. Відомо, що це сорт-дворучка [5], котрий можна висівати восени і навесні. Очевидно, саме генетичні особливості сорту виділяють його серед інших досліджених генотипів. Тому ми повторили кореляційний аналіз, виключивши сорт Зимоярка з масиву даних. Матриця парних і часткових коефіцієнтів кореляції між усіма досліджуваними показниками для кожного року наведена у табл. 2. Вилучення з розгляду даних для сорту Зимоярка призвело до зменшення за модулем значень коефіцієнтів кореляції. Як засвідчують отримані результати, зв'язок між досліджуваними показниками за окремими винятками є досить слабким і змінюється залежно від року проведення дослідів. Можливо, за використання для обчислення коефіцієнтів кореляції середніх значень у певні періоди можна виявити контрастніші відмінності між показниками сортів. Цікавим у цьому плані є наявність негативного зв'язку між вмістом цукрів і проліну в рослинах (див. табл. 2).

Таким чином, отримані нами дані свідчать про етапність змін досліджуваних показників у відповідь на дію температурного чинника на

ТАБЛИЦЯ 2. Парні та окремі (у дужках) коефіцієнти кореляції між середніми значеннями досліджених показників рослин озимої пшениці, обчислені для кожного генотипу (за винятком сорту Зимоярка) за весь період проведення дослідю кожного року

Показник	Показник	
	частка сухої речовини, %	пролін, мг/г сухої речовини
	2006/7 р.	
Пролін, мг/г сухої речовини	0,088 (0,196)	1,000
Цукри, мг/г сухої речовини	0,244 (0,298)	-0,363 (-0,399)
	2007/8 р.	
Пролін, мг/г сухої речовини	0,286 (0,176)	1,000
Цукри, мг/г сухої речовини	-0,292 (-0,186)	-0,472* (-0,424*)
	2008/9 р.	
Пролін, мг/г сухої речовини	0,517* (0,506*)	1,000
Цукри, мг/г сухої речовини	-0,123 (-0,040)	-0,243 (-0,212)

рослини озимої пшениці протягом осінньо-зимового періоду: найшвидше реакція проявляється через пристосування до нових умов обводненості тканин, через кілька діб відбуваються зміни вмісту розчинних цукрів, ще з деякою затримкою у часі виявляються перебудови на рівні метаболізму проліну. При цьому усі три показники по-різному реагують на зміну температури: частка сухої речовини змінюється лінійно, у той час як для вмісту цукрів спостерігається куполоподібна залежність, а для проліну — мінімум у ділянці позитивних низьких температур та стрімке зростання при зниженні температури до мінусових значень. Хоча між часткою сухої речовини та вмістом вільного проліну у рослинах виявлено позитивну кореляцію, більша мінливість цього показника під час зимівлі визначається температурним чинником.

1. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. — М.: Колос, 1979. — 416 с.
2. Майор П.С., Захарова В.П., Великожон Л.Г. Зміни вмісту вільного проліну у рослинах озимої пшениці протягом осінньо-зимового періоду // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — **41**, № 5. — С. 371—383.
3. Майор П.С., Козіна Г.Я., Сливка Л.В. Вміст розчинних цукрів у рослинах озимої пшениці протягом осінньо-зимового періоду // Там само. — 2010. — **42**, № 2. — С. 174—182.
4. Моргун В.В., Майор П.С. Зимо- і морозостійкість озимих злакових культур / Физиология рослин: Проблеми та перспективи розвитку. — К.: Логос, 2009. — Т. 2. — С. 105—165.
5. Моргун В.В., Санін Є.В., Швартау В.В. та ін. Клуб 100 центнерів: Сорти та технології вирощування високих урожаїв озимої пшениці. — К.: Логос, 2009. — 94 с.
6. Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс / 64-е Тимирязевское чтение. — М.: Наука, 2007. — 54 с.
7. Guy C., Kaplan F., Kopka J., Hincha D.K. Metabolomics of temperature stress // *Physiol. plant.* — 2008. — **132**. — P. 220—235.
8. Herman E.M., Rotter K., Premakumar R. et al. Additional freeze hardiness in wheat acquired by exposure to $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ is associated with extensive physiological, morphological, and molecular changes // *J. Exp. Bot.* — 2006. — **57**, N 14. — P. 3601—3618.
9. Kalberer S.R., Wisniewski M., Arora R. Deacclimation and reacclimation of cold-hardy plants: Current understanding and emerging concepts // *Plant Sci.* — 2006. — **171**, N 1. — P. 3—16.
10. Vaguffalvi A., Kerepesi I., Galiba G. et al. Frost hardiness depending on carbohydrate changes during cold acclimation in wheat // *Ibid.* — 1999. — **144**, N 2. — P. 85—92.

Отримано 01.07.2009

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ СВОБОДНОГО ПРОЛИНА,
РАСТВОРИМЫХ САХАРОВ И ОБВОДНЕННОСТЬЮ ТКАНЕЙ В РАСТЕНИЯХ
ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В ТЕЧЕНИЕ ОСЕННЕ-ЗИМНЕГО ПЕРИОДА

П.С. Майор

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Проанализирована взаимосвязь между содержанием в растениях свободного пролина, редуцирующих сахаров и массой сухого вещества в течение осенне-зимнего периода на основании данных, полученных для 28 генотипов озимой пшеницы в трехлетнем вегетационном опыте. Выявлены временные сдвиги между изменениями температурного фактора и исследуемых показателей. Установлено, что доля сухого вещества негативно коррелирует с температурой, тогда как для сахаров и пролина выявлены нелинейные зависимости от температурного фактора. Хотя между увеличением доли сухого вещества и накоплением пролина выявлена средняя положительная корреляция, содержание этой аминокислоты в большей мере определяется действием морозов на растения, чем вызванными низкими температурами потерями воды тканями.

INTERRELATION BETWEEN FREE PROLINE, SOLUBLE SUGARS AND DRY
MATTER CONTENTS IN PLANTS OF WINTER WHEAT DURING FALL-WINTER
PERIOD

P.S. Major

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

Interrelation between contents of free proline, reducing sugars and dry weight ratio was analyzed in plants during fall-winter period. Data array was obtained for 28 winter wheat genotypes during a three-year vegetation experiment. Time shifts were revealed between temperature changes and changes in the indices under study. Dry weight ratio negatively correlates with temperature, while nonlinear dependences upon temperature were observed for sugars and proline. Although a moderate positive correlation between dry weight ratio and proline content was observed, the increase in this amino acid in plants was mainly determined by the action of frost rather than by tissue dehydration under these conditions.

Key words: *Triticum aestivum* L., low temperature, freezing tolerance, proline, sugars.