УДК 581.1:58.02+58.009

ВМІСТ СУМІСНИХ ОСМОТИЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК У РОСЛИНАХ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ПРОТЯГОМ ЗИМІВЛІ

П.С. МАЙОР

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17
e-mail: major@ifrg.kiev.ua

Проаналізовано дані чотирирічного дрібноділянкового досліду стосовно динаміки вмісту в рослинах озимої пшениці двох класів сумісних осмотично активних сполук — вільного проліну і редукуючих цукрів — протягом осінньо-зимового періоду. Між дослідженими показниками виявлено середню позитивну кореляцію, яка пояснюється переважною односпрямованістю їх змін протягом зимівлі. Встановлено, що кореляція між вмістом редукуючих цукрів і часткою сухої речовини у рослинах залежить від метеорологічних умов року і може варіювати від сильної до середньої. Кореляційна залежність між вмістом проліну і часткою сухої речовини — середня або слабка, що підтверджує висновок про накопичення цієї амінокислоти у результаті прямого впливу морозів на рослини.

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

Рослини мають властивість адаптуватись до екстремальних температур унаслідок реалізації складних фізіолого-біохімічних і молекулярно-генетичних механізмів [6, 7, 10, 11, 14]. Серед процесів, які залучаються у ці механізми, першим є сприйняття неоптимальних температур або їхнього фізичного прояву та передача сигналу на клітинні компоненти, що програмують багатосторонні модифікації транскрипційних, протеомних і метаболічних шляхів, зміни складу й фізичних властивостей цитоплазми, мембран, клітинної стінки. При цьому регуляторні механізми, які задіяні у підтриманні гомеостазу, мають зберігати активність і функціонувати для відновлення нормальних рівнів метаболітів та найважливіших метаболічних потоків. У ході еволюції багато видів виробили комплекс механізмів, що дають їм можливість мінімізувати негативний ефект холодового стресу. Здатність адаптуватись (загартовуватись) до низьких температур, тобто збільшувати морозостійкість за умов впливу субоптимальних температур, притаманна багатьом видам зимуючих рослин. До них належить й озима пшениця — основна зернова культура України. Під час загартування у таких рослинах відбувається ціла низка генетичних і фізіолого-біохімічних перебудов, унаслідок чого стійкість рослин до морозів значно зростає і вони набувають здатності витримувати нижчі температури.

Своєчасний відтік води з протопласту до міжклітинників є одним із механізмів високої морозостійкості рослин, оскільки дає змогу уникнути утворення льоду всередині клітини [6, 7]. Однак надмірне зневоднен-

© П.С. МАЙОР, 2011

ня протопласта є небезпечним через негативні для життєдіяльності фізико-хімічні наслідки: денатурацію білків, утворення осадів у розчинах, пошкодження мембран. У таких рослин, як зимуючі злаки, морозостійкість базується значною мірою на водоутримувальній здатності клітин. Збереження води у незамерзлому стані в клітинах загартованих рослин досягається в результаті змін осмотичної сили розчинів унаслідок накопичення розчинних цукрів, білків, вільних амінокислот (зокрема, проліну, аргініну), гліцинбетаїну та інших осмотично активних сполук [6—8, 13]. У процесі адаптації рослин важливу роль виконують такі сумісні низькомолекулярні органічні осмотично активні речовини, як цукри та амінокислота пролін [6, 7, 11, 14].

У наших попередніх працях [4, 5] представлено результати вивчення динаміки обводненості тканин, вмісту вільного проліну і розчинних цукрів у рослинах озимої пшениці різних генотипів протягом осінньо-зимового періоду. Аналіз даних вегетаційних дослідів, де виключається такий чинник зимівлі, як наявність снігового покриву, дав змогу встановити зв'язок між дослідженими показниками і температурним чинником [3]. Було зроблено висновок, що хоча між часткою сухої речовини та вмістом вільного проліну в рослинах виявлено позитивну кореляцію, більша мінливість цього показника під час зимівлі визначається температурним чинником. Поза розглядом залишилось питання про взаємозв'язок між дослідженими показниками в рослинах озимої пшениці протягом періоду загартування і зимівлі в умовах відкритого ґрунту. Тому метою цієї роботи був аналіз даних чотирирічного дрібноділянкового досліду 2006/7—2009/10 рр. стосовно динаміки вмісту в рослинах озимої пшениці двох класів сумісних осмотично активних сполук — вільного проліну і редукуючих цукрів — протягом осінньо-зимового періоду.

Методика

Об'єктами дослідження були 28 генотипів озимої м'якої пшениці, що різнилися за морозостійкістю — 21 сорт та 7 ліній. Детальніше досліджувані генотипи та умови вирощування рослин описано раніше [4].

Протягом періоду загартування і перезимівлі впродовж чотирьох вегетаційних сезонів 2006/7—2009/10 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 [4, 5].

Дані щодо температури повітря протягом періоду досліджень отримано з інтернет-сайтів «Gismeteo» та «Розклад погоди» (архіви погодних даних для м. Києва http://gismeteo.ua/synarc.htm і http://rp5.ua/archive.php?wmo_id=33345 відповідно).

Аналіз і статистичну обробку експериментальних даних проводили на комп'ютері у середовищі електронних таблиць Microsoft Excel із використанням програмного забезпечення AtteStat (версія 12) (сайт програми http://attestatsoft.narod.ru). Обчислювали парні, часткові й множинні коефіцієнти лінійної кореляції або кореляційне відношення та їх стандартні похибки, а також коефіцієнти детермінації R^2. Значущість коефіцієнтів визначали за допомогою *t*-критерію Стьюдента або *F*-критерію Фішера [1]. Перед обчисленням парних коефіцієнтів кореляції перевіряли нормальність розподілу двовимірних вибірок.

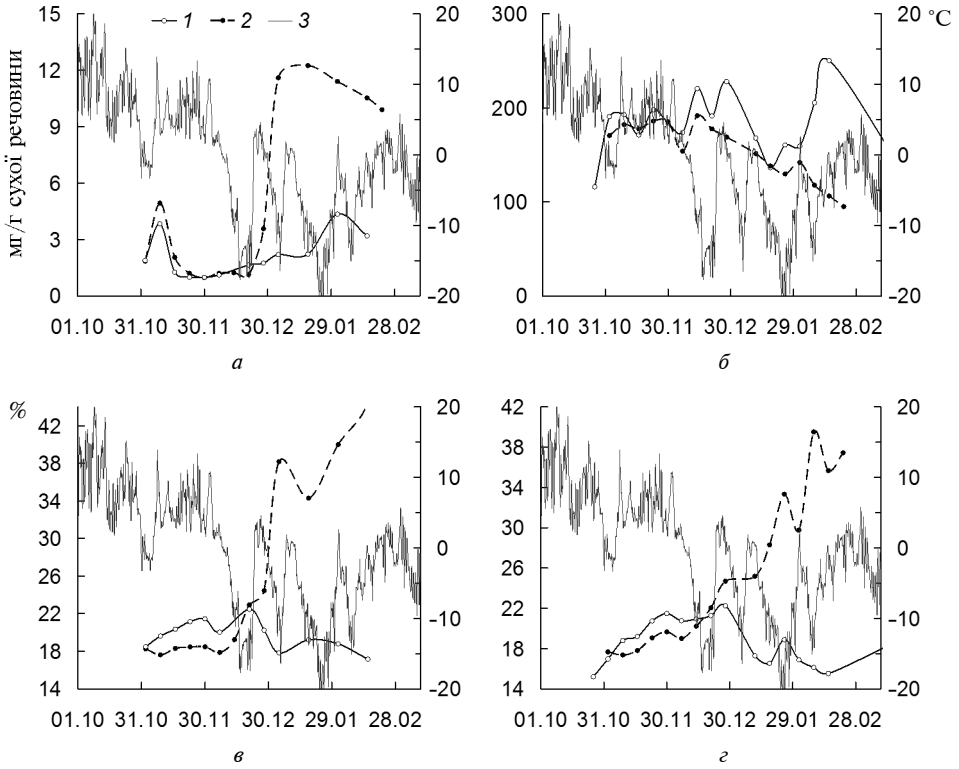
Результати та обговорення

Найпоширенішою причиною загибелі рослин взимку є зниження температури ґрунту на глибині вузла кущіння до критичного рівня, яке спостерігається у періоди сильних морозів за відсутності або невеликого снігового покриву. В окремі роки внаслідок вимерзання посіви озимих культур можуть значно ушкоджуватись на великих площах. Середньорічна загибель посівів озимих в Україні становить в останні роки близько 15 % [6].

Великий вплив на перезимівлю й урожайність озимої пшениці, безсумнівно, справляють метеорологічні чинники осінньо-зимового періоду [2, 6]. Недостатнє загартування рослин озимої пшениці восени внаслідок їх слабкого розвитку через пізні сходи та різкого зниження температури розглядають як одну з причин загибелі посівів у багатьох країнах [6, 12]. Порівняно з оголеними ґрунтами території, вкриті снігом, значно відрізняються за показниками температури, освітленості, водного і повітряного режимів. Наявність снігового покриву взимку забезпечує захист трав'янистих зимуючих рослин від вимерзання, значно мінімізуючи пошкоджувальний вплив сильних морозів [2, 6, 9]. Причиною цього є добрі теплоізолювальні властивості снігу в температурній точці його плавлення за 0 °С.

В умовах відкритого ґрунту дрібноділянкового експерименту динаміка досліджених показників рослин (частка сухої речовини, вміст вільного проліну, сумарний вміст розчинних редукуючих цукрів) визначається комплексом метеорологічних чинників, серед яких важливе місце належить температурі, освітленню та опадам. У холодну пору року зимівля рослин суттєво залежить від наявності і товщини снігового покриву. Ці обставини значно ускладнюють аналіз й інтерпретацію досліджених показників дрібноділянкового експерименту. З метою отримання статистично надійних результатів необхідно оперувати з даними кількох років досліджень. У зв'язку з цим числовий масив, отриманий у трьох вегетаційних сезонах 2006/7—2008/9 рр. [4, 5], було доповнено даними 2009/10 р. На рисунку наведено середні по всьому набору генотипів значення показників для рослин озимої пшениці дрібноділянкового, а також для порівняння — вегетаційного експерименту 2009/10 р. Відповідні графіки й опис метеорологічного режиму експерименту 2006/7—2008/9 рр. подано у попередніх роботах [4, 5].

З початку жовтня 2009 р. середньодобова температура повітря поступово знижувалась і була плюсовою в часовому інтервалі до 07.12 за винятком заморозків наприкінці жовтня—початку листопада (див. рисунок). Вони викликали невелике зменшення обводненості тканин (частка сухої речовини зростала до ~ 18 % за типових для цього періоду 14—15 %) і з деякою затримкою у часі — зростання вмісту вільного проліну в листках (локальний максимум відзначено 09.11.09). У подальшому обводненість тканин рослин дрібноділянкового експерименту, незважаючи на не рясні дощі, продовжувала зменшуватись, вегетаційного — залишилась практично на тому ж рівні. Вміст вільного проліну після третьої декади листопада 2009 р. суттєво зменшився. Вміст розчинних цукрів у рослинах був високим (~ 190 мг/г сухої речовини) уже з початку листопада. Надалі цей показник у дрібноділянковому експерименті коливався біля зазначеного рівня до кінця спостережень. Натомість вміст цукрів у рослинах вегетаційного експерименту з другої половини грудня майже



Динаміка вмісту вільного проліну, суми цукрів і частки сухої речовини в рослинах озимої пшениці у 2009/10 р.:

а — вміст вільного проліну, мг/г сухої речовини, *б* — сумарний вміст цукрів, мг/г сухої речовини; *в*, *г* — частки сухої речовини відповідно в листках і надземній частині, %; *1* — дрібноділянковий дослід; *2* — вегетаційний дослід; *3* — температура, °С (права вісь ординат)

монотонно зменшувався. У цей час відбулось сильне похолодання: нічна температура опускалась нижче —17 °С. Цим морозам передувало випадання снігу, що поліпшило температурний режим для рослин дрібноділянкового експерименту. У січні сніговий покрив продовжував зростати і суворі морози (03—05.01 і 16—30.01.10 р.) не зашкодили посівам відкритого ґрунту. Обводненість тканин рослин на цьому часовому проміжку навіть збільшилась, а вміст вільного проліну незначно зріс (локальний максимум зареєстровано 01.02.10 р., у наступні два тижні його вміст зменшувався). Зовсім інша ситуація спостерігалась у морозний період із вмістом проліну в рослинах вегетаційного експерименту: хвиля похолодання другої половини грудня спричинила різке зростання цього показника (див. рисунок). Деяке зменшення вмісту вільного проліну відбулось у лютому 2010 р. у відповідь на періоди тимчасового підвищення температури повітря.

Відсутність даних щодо температури на рівні вузла кущіння і листків рослин дрібноділянкового експерименту унеможливлює проведення кореляційного аналізу з метою визначення взаємозв'язку між змінами температурного чинника і дослідженими показниками, як це було зроблено в попередній праці [3]. Тому ми обмежились визначенням кореляційного зв'язку між дослідженими фізіолого-біохімічними показниками, що характеризують реакцію рослин на температурні та інші метеорологічні умови.

ТАБЛИЦЯ 1. Парні коефіцієнти кореляції між досліджуваними показниками рослин озимої пшениці для чотирьох 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	0,40	1,00	−0,65*
Цукри, мг/г сухої речовини	−0,41	−0,65*	1,00
	2007/8 р.		
Пролін, мг/г сухої речовини	0,34	1,00	0,45*
Цукри, мг/г сухої речовини	0,31	0,45*	1,00
	2008/9 р.		
Пролін, мг/г сухої речовини	0,47*	1,00	0,50*
Цукри, мг/г сухої речовини	0,78**	0,50*	1,00
	2009/10 р.		
Пролін, мг/г сухої речовини	−0,12	1,00	0,30
Цукри, мг/г сухої речовини	0,30	0,30	1,00
	2006/7—2009/10 рр.		
Пролін, мг/г сухої речовини	0,33	1,00	0,25
Цукри, мг/г сухої речовини	0,24	0,25	1,00

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

У табл. 1 узагальнено результати парного кореляційного аналізу між середніми значеннями досліджуваних показників, обчисленими для групи з усіх генотипів. Як засвідчують отримані дані, середня кореляція (значення модулів коефіцієнтів у межах 0,3...0,7 [1]) існує між вмістом двох вивчених класів осмотично активних сполук та між вмістом кожної зі сполук і часткою сухої речовини (крім 2009/10 р., коли кореляція між вмістом проліну і часткою сухої речовини була відсутня). Зв'язок між досліджуваними показниками змінювався залежно від року проведення експерименту. Найменшу кореляційну залежність між ними виявлено для даних 2009/2010 р., найбільшу — для 2008/9 р. (зокрема, між вмістом розчинних цукрів і часткою сухої речовини). У всі роки досліджень парні коефіцієнти лінійної кореляції мали позитивні значення, негативний зв'язок між вмістом цукрів та іншими показниками виявлено лише для 2006/7 р. Причиною цього, на нашу думку, є обмеженість даних 2006/7 р., які отримано після 27.11.06 р., коли вміст цукрів уже зріс у результаті загартування. Тому ми повторили кореляційний аналіз, вилучивши дані 2006/7 р. з розгляду.

Матриця парних та окремих коефіцієнтів кореляції між усіма досліджуваними показниками для трьох років експерименту представлена у табл. 2. Відбулось збільшення значень усіх парних коефіцієнтів кореляції між вмістом цукрів та іншими показниками і зменшення коефіцієнта кореляції між вмістом вільного проліну і часткою сухої речовини. Як засвідчують отримані результати, обчислені часткові коефіцієнти кореляції між вмістом цукрів та іншими показниками, як і парні коефіцієнти, є значущими (на рівні 95 %), причому лише незначна частина цього взає-

ТАБЛИЦЯ 2. Коефіцієнти кореляції між досліджуваними показниками рослин озимої пшениці для трьох років експериментів 2007/8—2009/10 рр.

Показник	Показник		
	частка сухої речовини, %	пролін, мг/г сухої речовини	цукри, мг/г сухої речовини
Парні коефіцієнти кореляції			
Пролін, мг/г сухої речовини	0,10	1,00	0,38*
Цукри, мг/г сухої речовини	0,35*	0,38*	1,00
Часткові коефіцієнти кореляції $R_{xy \cdot z}$, $r_{xz \cdot y}$, $r_{yz \cdot x}$ [x]			
Пролін, мг/г сухої речовини	−0,05	1,00	0,37*
Цукри, мг/г сухої речовини	0,35*	0,37*	1,00
Множинні коефіцієнти кореляції $R_{x \cdot yz}$, $R_{y \cdot xz}$, $R_{z \cdot xy}$ [xx]			
Пролін, мг/г сухої речовини, цукри, мг/г сухої речовини	0,36	—	—
Частка сухої речовини, %, цукри, мг/г сухої речовини	—	0,38	—
Частка сухої речовини, %, пролін, мг/г сухої речовини	—	—	0,50**

Примітка. [x] — показник спряженості двох ознак за постійного значення третьої, [xx] — показник спряженості між однією з ознак і сукупністю двох інших [1].

мозв'язку обумовлена впливом третього показника. Водночас хоча множинний коефіцієнт кореляції між вмістом проліну та двома іншими показниками є значущим на рівні 90 %, а множинний коефіцієнт кореляції між вмістом цукрів та двома іншими показниками — на рівні 99 %, множинні коефіцієнти детермінації становлять лише 0,15 і 0,25, тобто варіація вмісту цих сполук лише на 15 і 25 % пов'язана з іншими показниками. Такий висновок є цілком логічним, оскільки найбільший вплив на вміст двох досліджених класів осмотично активних сполук справляють метеорологічні умови, у тім числі температурний чинник. Це підтверджується також тим, що коефіцієнти кореляції, обчислені для трьох років експериментів, менші за відповідні коефіцієнти для кожного з років, окрім 2009/10 р. (див. табл. 1, 2). Зауважимо, що виявлена нами етапність змін досліджуваних показників у відповідь на дію температурного чинника на рослини протягом осінньо-зимового періоду [3] також може впливати на взаємозв'язок між ними.

Отже, в умовах відкритого ґрунту існує взаємозв'язок між вмістом у рослинах озимої пшениці двох класів сумісних осмотично активних сполук — вільного проліну і редукуючих цукрів — протягом осінньо-зимового періоду. Це є відображенням синбатності динаміки (спрямованості змін в один бік) цих показників протягом осінньо-зимового періоду. Значне, у кілька разів, зростання вмісту розчинних цукрів до 20—30 % маси сухої речовини визначає високий коефіцієнт кореляції між цим показником та часткою сухої речовини. Слабка кореляційна залежність між останнім показником та вмістом вільного проліну свідчить про незначний вплив зневоднення тканин, яке відбувається при зниженні температури до мінусових значень, на накопичення цієї сполуки в рослинах у природних умовах зимівлі.

1. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). — М.: Колос, 1979. — 416 с.
2. *Личикаки В.М.* Перезимовка озимых культур. — М.: Колос, 1974. — 207 с.
3. *Майор П.С.* Взаємозв'язок між вмістом вільного проліну, розчинних цукрів та обводненістю тканин у рослинах озимої пшениці протягом осінньо-зимового періоду // Физиология и биохимия культ. растений. — 2010. — **42**, № 4. — С. 298—305.
4. *Майор П.С., Захарова В.П., Великожон Л.Г.* Зміни вмісту вільного проліну у рослинах озимої пшениці протягом осінньо-зимового періоду // Там само. — 2009. — **41**, № 5. — С. 371—383.
5. *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.
6. *Моргун В.В., Майор П.С.* Зимо- і морозостійкість озимих злакових культур / Фізіологія рослин: Проблеми та перспективи розвитку. — К.: Логос, 2009. — Т. 2. — С. 105—165.
7. *Трунова Т.И.* Растение и низкотемпературный стресс / 64-е Тимирязевское чтение. — М.: Наука, 2007. — 54 с.
8. *Ashraf M., Foolad M.R.* Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance // Environ. Exp. Bot. — 2007. — **59**, N 2. — P. 206—216.
9. *Griffith M., Gudleifsson B.E., Fukuta N.* Abiotic stresses in overwintering crops // Low Temperature Plant Microbe Interactions Under Snow / Eds. N. Iriki, D.A. Gaudet, A.M. Tronsmo, N. Matsumoto, M. Yoshida and A. Nishimune. — Hokkaido Nat. Agric. Exp. Sta., Sapporo, Hokkaido, 2001. — P. 101—114.
10. *Guy C., Kaplan F., Kopka J., Hincha D.K.* Metabolomics of temperature stress // Physiol. plant. — 2008. — **132**. — P. 220—235.
11. *Herman E.M., Rotter K., Premakumar R. et al.* Additional freeze hardiness in wheat acquired by exposure to —3 °C is associated with extensive physiological, morphological, and molecular changes // J. Exp. Bot. — 2006. — **57**, N 14. — P. 3601—3618.
12. *Saulescu N.N., Braun H.-J.* Cold tolerance // Application of Physiology in Wheat Breeding. — Mexico : CYMMIT, 2001. — P. 111—123.
13. *Trischuk R.G., Schilling B.S., Wisniewski M., Gusta L.V.* Freezing stress: Systems biology to study cold tolerance // Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants / Eds. K.V. Madhava Rao, A.S. Raghavenra and K. Javardhan Reddy. — Dordrecht: Springer, 2006. — P. 131—155.
14. *Vagujfalvi A., Kerepesi I., Galiba G. et al.* Frost hardiness depending on carbohydrate changes during cold acclimation in wheat // Plant Sci. — 1999. — **144**, N 2. — P. 85—92.

Отримано 17.01.2011

СОДЕРЖАНИЕ СОВМЕСТИМЫХ ОСМОТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТЕНИЯХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ НА ПРОТЯЖЕНИИ ЗИМОВКИ

П.С. Майор

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Проанализированы данные четырехлетнего мелкоделяночного опыта о динамике содержания в растениях озимой пшеницы двух классов совместимых осмотически активных соединений — свободного пролина и редуцирующих сахаров — на протяжении осенне-зимнего периода. Между исследованными показателями выявлена средняя положительная корреляция, которая объясняется преобладающей однонаправленностью их изменений в течение зимовки. Установлено, что корреляция между содержанием редуцирующих сахаров и долей сухого вещества в растениях зависит от метеорологических условий года и может варьировать от сильной до средней. Корреляционная зависимость между содержанием пролина и долей сухого вещества — средняя или слабая, что подтверждает вывод о накоплении этой аминокислоты в результате прямого влияния морозов на растения.

THE CONTENT OF COMPATIBLE OSMOLYTES IN WINTER WHEAT PLANTS DURING WINTERING

P.S. Major

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

The data of four-year small plot field experiment on dynamics of content of two classes of compatible osmolytes, namely free proline and reducing sugars, during fall-winter period were analyzed. Medium positive correlation between mentioned indices was found. This correlation was determined by prevailing unidirectionality of their changes during wintering. It was found that correlation between the content of reducing sugars and the dry weight ratio in plants depends on meteorological conditions, and can range from strong to moderate. A correlation relationship between the proline content and the dry weight ratio ranged from moderate to weak, which confirms the conclusion about the accumulation of this amino acid as a result of the direct influence of frost on plants.

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