БІОЛОГІЯ

УДК 577:122:58.036.2 https://doi.org/10.31548/biologiya13(1-2).2022.007
http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/article/view/16268

КОЛИВАЛЬНИЙ ХАРАКТЕР БІЛКІВ ТЕПЛОВОГО ТА ХОЛОДОВОГО ШОКУ СОРТІВ ВІВСА ПОСІВНОГО В УМОВАХ СТРЕСОВИХ ЧИННИКІВ СЕРЕДОВИЩА

Н.Г. НЕСТЕРОВА,
Національний університет біоресурсів і природокористування України,
м. Київ, Україна,
ORCID 0000-0001-8366-2621
Ю.В. РУБАН,
Інститут проблем безпеки атомних електростанцій НАН України,
м. Чорнобиль, Україна,
ORCID 0000-0002-1767-3688
О.Ю. ПАРЕНЮК,
Національний університет біоресурсів і природокористування України,
м. Київ,
Інститут проблем безпеки атомних електростанцій НАН України,
м. Чорнобиль,
ORCID 0000-0002-9057-8441
К.Є. ШАВАНОВА,
АТ «Kernel-group», м. Київ, Україна,
ORCID 0000-0002-6798-3123, koriza@ukr.net
С.П. ЛІКАР,
старший науковий співробітник сектору методичного забезпечення відділу експертизи на відмінність, однорідність та стабільність сортів рослин,
Український інститут експертизи сортів рослин

Анотація. *У статті наведено результати досліджень експресивності генетичних систем адаптації сортів вівса посівного різного еколого-географічного походження та цільового призначення до низьких та високих температур. Виділено специфічні білки холодового та теплового шоку, встановлено значну активність ферменту пероксидази у сортів Айворі та Нептун, що характери-*

зує їхню підвищену стійкість до холодового окисного стресу. Виявлено, що сорти Айворі, Аркан та Нептун є стійкими до високотемпературного та водного стресу, що зумовлено вищим вмістом білків теплового шоку з молекулярною масою 80, 70 та 60 кДа. У сорту Гессер знизився вміст високомолекулярних білків (250 кДа) та білків з молекулярною масою 110, 100, 80 і 70 кДа, що дає можливість віднести даний сорт до низькостійких сортів.

Встановлено вищу активність пероксидази у сортів Айворі, Аркан та Нептун, що характеризує їхню підвищену стійкість до окисного стресу зимового та літнього періодів і показано, що сорти Айворі та Нептун володіють високою експресивністю білків і є високоморозо- та посухостійкими, Аркан та Артур – середньо морозо- та посухостійкими, а сорт Гессер володіє низькою стійкістю до стресових умов середовища, що дещо обмежує його використання на території України. Досліджено, що найбільшою пероксидазною активністю в оптимальних умовах вирощування та за дії водного та високотемпературного стресів володіють сорти Айворі зернового призначення та Нептун – фуражного призначення, що дає підстави рекомендувати ці сорти до вирощування у зоні Лісостепу та Степу України.

Ключові слова. *Овес посівний, сорти, пероксидаза, ІФХ, пролін, морозостійкість, посухостійкість.*

Вступ.

Стреси зимового та літнього періодів призводять до різкого зниження продуктивності, а часто і загибель рослин вівса. За дії стресових чинників інтенсивні сорти можуть реалізувати лише 15-30% потенційної продуктивності (Ненко та ін., 2018).

Умови ґрунтово-кліматичних зон Лісостепу і Степу України сприяють отриманню високих урожаїв вівса посівного, що здатні витримувати конкуренцію на міжнародному ринку (Жученко, 2001). Водночас, отримання стабільно високих урожаїв суттєво обмежується впливом несприятливих чинників зовнішнього середовища – зимових морозів, особливо після тривалої теплої погоди, та літньої посухи (Ван та ін., 2008). Тому тільки ті сорти, у яких наявна висока якість із адаптованістю до умов даного регіону зростання, можуть успішно оброблятися без втрати врожайності (Хі, 2014).

У зв'язку з цим особливої актуальності набуває не тільки питання виділення перспективних генотипів, але й визначення експресивності генетичних систем, тобто здатності реалізувати потенційні можливості генотипу у визначених умовах середовища (Сарахан, 2011). Основною метою досліджень було вивчення експресивності генетичних систем адаптації досліджуваних сортів вівса посівного до низьких температур у стані спокою та високим температурам літнього періоду на прикладі білків, які мають пероксидазну активність. Для досягнення поставленої мети було виділено також завдання щодо визначення вмісту білків холодового та теплового стресів, активності функціонування антиоксидантної системи сортів вівса посівного,

що різняться за ступенем стійкості до низьких та високих температур.

Матеріал і методи дослідження.

Об'єктами досліджень стали сорти вівса посівного зернового (високо– Айворі та середньостійкі – Аркан та Артур) та фуражного призначення (високо – Нептун та низькостійкий – Гесер). Місце проведення досліджень – технічна колекція злакових посівів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України, м. Київ. Лабораторні дослідження проведено на базі лабораторії відділу фізіології дії гербіцидів ІФРГ НАН України та лабораторії кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики НУБіП України. Вміст білків визначали спектральним методом на спектрофотометрі UNICO 2800, активність пероксидази – спектральним методом, вміст проліну – за методикою Мокроносова, білкові спектри – методом електрофорезу у ПАГ (Ненько та ін., 2017). Визначення індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ) проводили за допомогою хронофлоурометра "Флоратест", розробленого Інститутом кібернетики ім. В.М. Глушкова НАН України. Дослідження проводили у польових умовах та під час моделювання стресу (штучне зневоднення; температури -25°С та +55°С). Експериментальні дані обробляли за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики. Аналізований період 2017-2020 рр..

Результати дослідження та їхнє обговорення.

Гідротермічні умови Лісостепової та Степової зони України за 2017-2020 рр. показали суттєве підвищення максимальних та мінімальних температур у грудні та січні. Так, у грудні максимальна температура повітря підвищувалася з 8-10 ° С до 16° С, а мінімальна – з -14...-12°С до -2…0°С. У січні 2020 року – мінімальна температура повітря підвищувалася від – -18... -16 °С до -8 °С, а максимальна за аналізований період становила стабільно 12°С. Відомо, що аналіз фракційного складу білкового комплексу з пероксидазною активністю у досліджуваних сортів злакових та плодових культур показав вміст широкого спектру білків з молекулярною масою 140, 130, 120, 100, 90, 80, 70, 65, 55, 50 і 40 кДа [5]. Так, сорти Айворі (володар – Заатен-Уніон ГмбХ) та Нептун (володар – Чернігівський інститут агропромислового виробництва УААН) відрізнялися від інших досліджуваних сортів наявністю білка з молекулярною масою 60 кДа і великим вмістом білків з молекулярною масою 100, 80, 50 і 40 кДа, що, вірогідно, пов'язано з їхнім еколого-географічним походженням та високою адаптацією до гідротермічних умов. Сорт Аркан на відміну від інших досліджуваних сортів містив білок з молекулярною масою 140 кДа, а сорт Артур – білок з молекулярною масою 110 кДа. На відміну від інших сорт Гесер містив білки з молекулярною масою 65 кДа та 70 кДа, що підтверджує експресивність генетичних систем.

Одним з показників, що характеризують рівень окиснювального стресу у рослині, служить активність роботи фотосинтетичної системи, до якої відноситься флуоресценція хлорофілу та активність первинного антиоксидантного ферменту – пероксидази. Пероксидазна активність у досліджуваних сортів коливаєть-

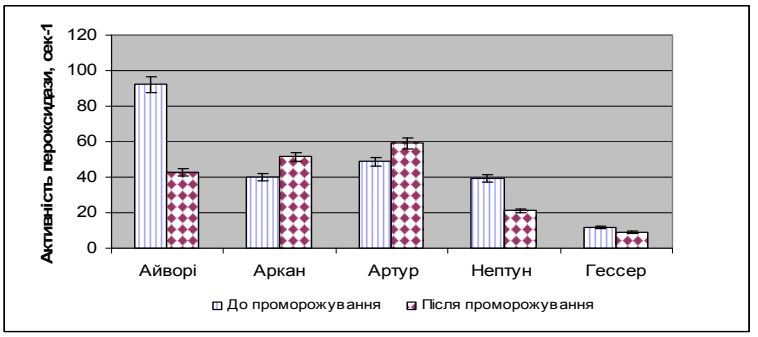

Рис. 1 Активність пероксидази сортів вівса до та після проморожування проростків, 2019 р.

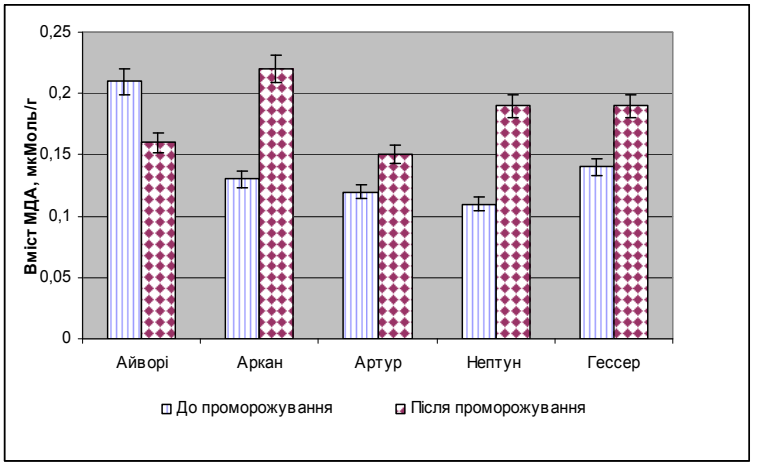

Рис. 2 Уміст малонового діальдегіду в сортів вівса до та після проморожування проростків, 2019 р.

ся від 11,78 сек-1 у сорту Гесер до 92,14 сек-1 у сорту Айворі. Значні відмінності сортів за показником пероксидазної активності, насамперед характеризують специфіку зимостійкості сортів і можуть бути пов'язані із відмінностями у спектрах білків, які володіють власне пероксидазною активністю (рис. 1).

Після проморожування проростків вівса у модельному досліді пероксидазна активність більшості сортів зменшується, а у сортів Аркан та Артур – дещо знижується; вміст малонового діальдегіду у всіх сортів достовірно підвищується, а у сорту Айворі – знижується, що пояснюється його еколого-географічним походженням (рис. 2).

Під час проморожування проростків вівса у лабораторного досліді встановлено, що у більшості досліджуваних сортів зникають високомолекулярні білки з молекулярною

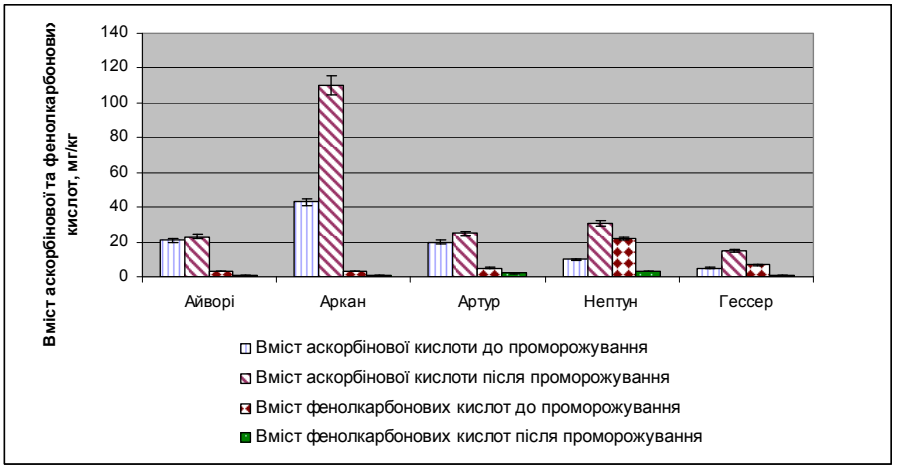

Рис. 3 Уміст аскорбінової та фенол карбонових кислот у проростках вівса до та після проморожування, 2019 р.

масою 140, 130, 120 кДа та низькомолекулярні фракції з молекулярною масою 55, 50 і 40 кДа, водночас з'являються фракції з молекулярною масою 110 кДа (сорт Айворі), 85 кДа – у всіх сортів, 80 кДа (у всіх сортів, окрім Гессер), 65 і 60 кДа у сортів Айворі і Нептун, що може бути пов'язане із дещо спільним походженням цих двох сортів та їх високою стійкість до посухи. Таким чином, можна зробити висновок про те, що у всіх досліджуваних сортів за дії низьких температур білки холодового стресу мають молекулярну масу 85, 80 і 65 кДа., а у сортів Айворі та Нептун – додатково молекулярну масу 60 кДа. Значна активність пероксидази у проростках вівса сортів Айворі, Аркан та Нептун характеризує підвищену стійкість їх до окисного стресу і узгоджується з вищим вмістом аскорбінової кислоти у сортів Аркан та Нептун та фенолкарбонових кислот – у сорту Нептун (рис. 3).

На території зони Лісостепу та Степу, де знаходяться польові ділянки дослідних культур, липень та серпень 2018-2020 рр. були жаркими та посушливими. Температура повітря досягала 33 та 37 °С, опади склали відповідно 6 та 2 см. Максимальна температура літа 2020 року перевищила максимальну температуру літа 2019 року на 4-7 °С, а мінімальна – на 3-5 °С. Особливо екстремальним, у зв'язку з повною відсутністю опадів був серпень 2019 року

Аналіз електрофоретичних спектрів водосолерозчинних білків, що проявляють пероксидазну активність, дає можливість охарактеризувати експресивність генетичних систем досліджуваних сортів вівса у комплексі з цілою низкою фізіолого-біохімічних критеріїв та оцінити потенційну стійкість рослин до спеки та посухи. Електрофоретичний спектр білків з пероксидазною активністю у рослин вівса представлений білками з молекулярною масою 250, 120, 110, 100, 85, 70, 60 кДа. На відміну від Айворі в сорті Аркан містилося більше білків з молекулярною ма-

сою 110, 100, 85 кДа, а в сорті Нептун – з молекулярною масою 100, 85, 70 та 60 кДа. Сорт Гессер відрізнявся від інших досліджених сортів великим вмістом високомолекулярних білків з молекулярною масою 250, 120 та110 кДа. Визначення активності ферменту пероксидази у серпні 2020 року дало змогу встановити, що серед досліджуваних сортів вищою пероксидазною активністю у звичайних умовах і за дії водного стресу виділявся сорт Айворі, а за сумісної дії водного і високотемпературного стресу – 2 сорти – Айворі та Нептун (рис. 4).

За дії високотемпературного стресу у модельному досліді у сортів Аркан та Артур збільшився вміст білків з низькою молекулярної масою: 100, 80, 70, 60 кДа у сорти Аркан та 110, 80, 70 кДа у Артур. У сортів Айворі та Нептун підвищився вміст білків з молекулярною масою 70 і 60 кДа. Лише у сорту Гессер знизився вміст високомолекулярних білків (250 кДа) та білків з молекулярною масою 110, 100, 80 і 70 кДа. Результати досліджень свідчать про те, що сорти Айворі, Нептун та Аркан є стійкими до високотемпературного та водного стресів, що зумовлено вищим вмістом білків теплового шоку з молекулярною масою 80, 70 та 60 кДа.

Визначення індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ) "а" в асимілюючих тканинах рослин дає можливість оцінити активність роботи власне фотосистеми ІІ, яка є найчутливішою до чинників зовнішнього середовища (Нестерова та ін., 2019). Таку інформацію доцільно використовувати для оцінки стійкості рослин, оскільки ІФХ дає первині дані щодо функціонування фотосинтетичного апарату та можливі відхилення у разі стресової дії (Ільєнко, 2017). Так, у сортів Айворі, Аркан та Нептун підвищення температури до + 30 ºС викликало достовірне збільшення кривої ІФХ порівняно із контролем (у якості контролю було обрано t = + 25 ºС). Для сортів Артур та Гессер подібне підвищення було незначним. Подальше підвищення температури до + 40 ºС в усіх досліджених сортів не призводило до появи піків ІФХ, що пов'язано

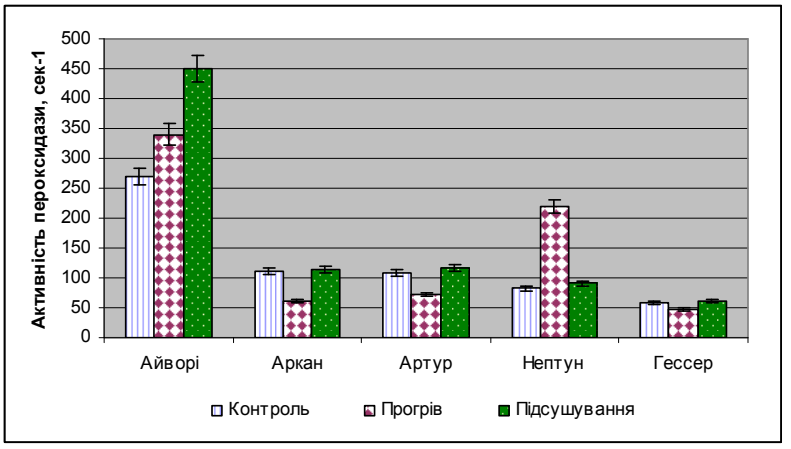

Рис. 4 Активність пероксидази у сортах вівса за дії водного та високотемпературного стресів, 2020 р.

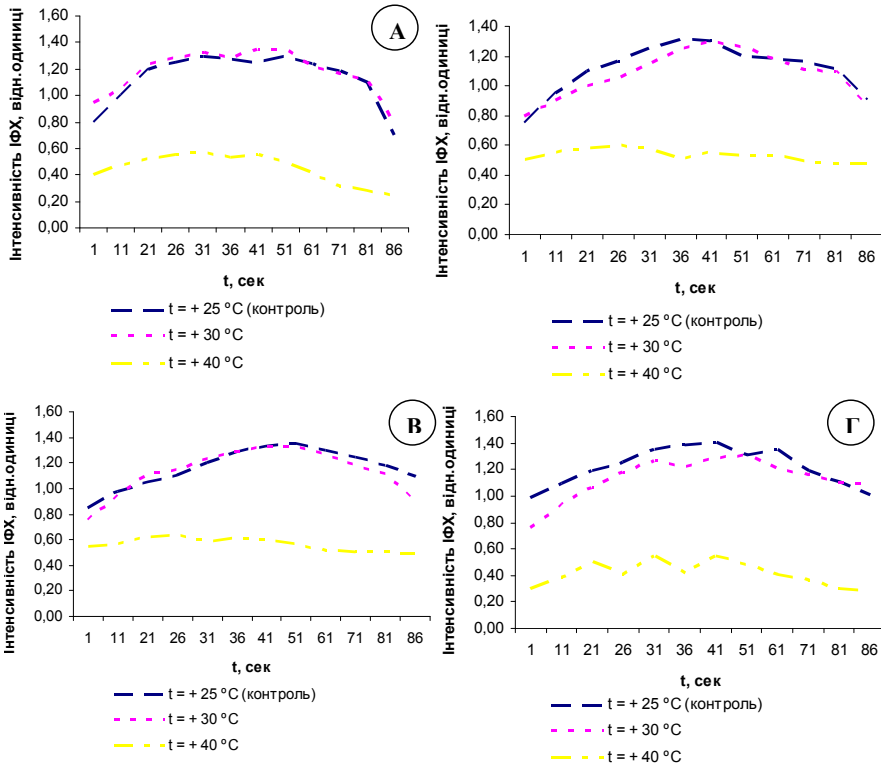

Рис. 5 ІФХ листків сортів вівса А − Айворі; Б − Аркан; В − Нептун; Г− Гессер, 2020 р.

із негативним впливом високих температур на електрон-транспортний ланцюг фотосинтетичної системи. Водночас, у сортів Айворі та Нептун динаміка кривої ІФХ була стабільнішою та швидше виходила на плато, що свідчить про вищу потенційну стійкість до посухи та водного дефіциту зазначених сортів (рис. 5).

У процесі вегетації уміст зв'язаних форм води в листках досліджуваних сортів достовірно знижувався. Значний вплив на вміст зв'язаної води має осмопротектор пролін (амінокислота) – продукт гідролізу білків. У разі випадіння опадів вміст проліну у листках знижувався, а в разі посилення посухи – збільшувався. У серпні вищий вміст проліну відзначався в сортів Айворі, Аркан та Нептун. Однак під час визначення залежності між вмістом зв'язаної води та проліну, а також іншого осмопротектора – сахарози (окрім сортів Аркан, Артур та Гессер) спостерігалася зворотна кореляція. Це може бути пов'язано із активним гідролізом білка, що збільшує вміст вільного проліну в цитозолі (рис. 6).

Висновки.

У результаті визначення експресивності генетичних систем адаптації да-

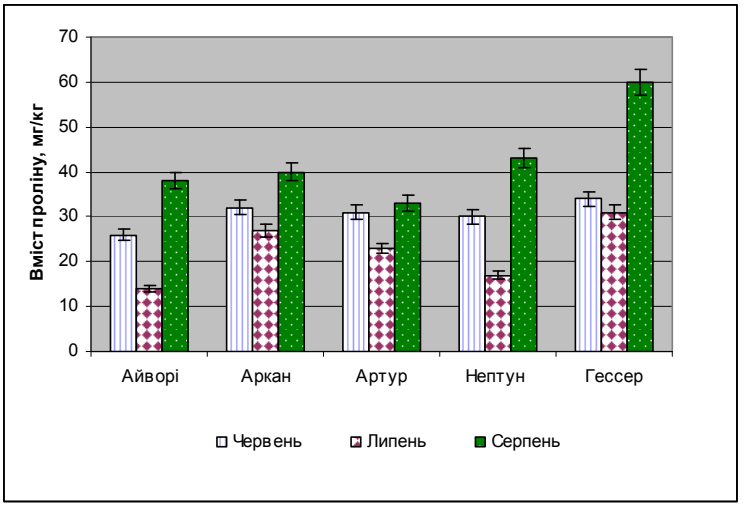

Рис. 6 Динаміка вмісту проліну у рослин вівса за літній період, 2020 р.

них сортів вівса до низьких температур у стані спокою та високих температур літнього періоду виділено специфічні білки теплового та холодового стресу стійкості сортів вівса посівного різного еколого-географічного походження до абіотичних чинників зимового та літнього періодів. Було встановлено вищу активність пероксидази у сортів Айворі, Аркан та Нептун, що характеризує їх підвищену стійкість до окисного стресу зимового та літнього періодів. За результатами досліджень показано, що сорти Айворі та Нептун володіють високою експресивністю білків і є високоморозо- та посухостійкими, Аркан та Артур – середньо морозо- та посухостійкими, а сорт Гессер володіє низькою стійкістю до стресових умов середовища, що дещо обмежує його використання на території України. Було виявлено, що найбільшою пероксидазною активністю в оптимальних умовах вирощування та за дії водного та високотемпературного стресів володіють сорти Айворі зернового призначення та Нептун – фуражного призначення, що дає можливість рекомендувати ці сорти до вирощування у зоні Лісостепу та Степу України.

References

1. N. Nenko, G. Kisileva, E. Ulianovskaya, E. Yablonskaya, and A. Karavaeva, “Physiological-biochemical criteria of the apple-tree resistance to the summer period abiotic stresses” Eurasian J. Biosci., vol. 12, no. 1, 2018, pp. 55–61
2. A. A. Zhuchenko, Adaptive system of plant breeding (ecological and genetic basis), M., vol. 2. 2001, P. 211
3. Y. Wan, H. Schwaninger, D. Li, C. J. Simon, Y. Wang, and C. Zhang, “The eco-geographic distribution of wild grape germplasm in China” VITIS - J. Grapevine Res., vol. 47, no. 2, 2008, pp. 77–80, doi: 10.5073/VITIS.2008.47.77-80
4. W. Xu, R. Li, N. Zhang, F. Ma, Y. Jiao, and Z. Wang, “Transcriptome profiling of Vitis amurensis, an extremely cold-tolerant Chinese wild Vitis species, reveals candidate genes and events that potentially connected to cold stress” Plant Mol. Biol., vol. 86, no. 4, 2014, pp. 527–541, doi:

10.1007/S11103-014-0245-2.
5. E. V. Sarahan, "Features of the practical application of portable biosensor devices families 'Floratest", 2011, pp. 10–94
6. N. Nenko, V. S. Petrov, I. A. Ilina, G. K. Kiseleva, M. A. Sundyreva, and V. V. Sokolova, "Physiological and biochemical mechanisms of adaptation to low-temperature stresses of grapes varieties of various ecological geographical origin" Sadovod. i Vinograd., vol. 5, 2017, pp. 33–38
7. N. Nesterova, O. Pareniuk, V. Illienko, Y. Ru-ban, K. Shavanova, and N. Shpyrka, "Physiological Reactions in Cereals Family Avena Sativa L. and Avena Nuda L., Caused by Lowerature Stress Factors", ELNANO 2019, pp. 502–506, doi: 10.1109/ELNANO.2019.8783870.
8. V. Illienko, N. Nesterova, O. Pareniuk, Y. Ruban, and K. Shavanova, "Estimation of the effect of radionuclide contamination on Vicia sativa L. induction of chlorophyll fluorescence parameters using 'Floratest' optical biosensor", Biophotonics-Riga 2017, vol. 10592, p. 20, doi: 10.1117/12.2297563

N. Nesterova, Y. Ruban, O. Pareniuk, K. Shavanova, S. Likar (2022)
OSCILLATING CHARACTER OF HEAT AND COLD SHOCK PROTEIN CONTENT OF OATS PLANTS IN THE CONDITIONS OF STRESSFUL FACTORS OF THE ENVIRONMENT.*BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 13(1-2):5-13.*
http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/article/view/16268
https://doi.org/10.31548/biologiya13(1-2).2022.007

Abstract. *The article presents the results of research on the gene expression systems of adaptation of sowing oats from the different ecological and geographical origins at low and high temperatures. Specific cold and heat shock proteins were isolated. Significant peroxidase activity was found in Ivory and Neptune varieties, which characterizes their increased resistance to cold oxidative stress.*

It was found that the varieties Ivory, Arkan and Neptune are resistant to high temperature and water stress, due to the higher content of heat shock proteins with a molecular weight of 80, 70 and 60 kDa. The content of high-molecular proteins (250 kDa) and proteins with a molecular weight of 110, 100, 80 and 70 kDa has decreased in the Hesser variety, which makes it possible to classify this variety as a low-resistance variety. Higher peroxidase activity was found in Ivory, Arkan and Neptune varieties, which characterizes their increased resistance to oxidative stress in winter and summer.

It is shown that Ivory and Neptune varieties have high protein expression and are highly frost- and drought-resistant, Arkan and Arthur – moderately frost- and drought-resistant, and Gesser variety has low resistance to stressful environmental conditions, which somewhat limits its use in Ukraine.

It is found that the highest peroxidase activity in optimal growing conditions and under the action of water and high temperature stress have varieties Ivory grain purpose and Neptune – fodder purpose, which allows to recommend these varieties for growing in the Forest-Steppe and Steppe of Ukraine.

Keywords: *sowing oats, varieties, peroxidase, IChF, proline, cold resistance, drought resistance.*