

УДК 581.19., 582.814

Н.В. Скрипченко, О.І. Дзюба, В.П. Книш

Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України
вул. Тимірязєвська, 1, м. Київ, 01014 Україна
e-mail: pandarija@gmail.com

ДИНАМІКА ВМІСТУ ПРОЛІНУ ТА АДАПТАЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ДЕРЕВНИХ ЛІАН ЗА УМОВ ІНТРОДУКЦІЇ В ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

Інтродукція, деревні плодові ліани, пролін, стрес

ДИНАМІКА ВМІСТУ ПРОЛІНУ ТА АДАПТАЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ДЕРЕВНИХ ЛІАН ЗА УМОВ ІНТРОДУКЦІЇ В ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ. Н.В. Скрипченко, О.І. Дзюба, В.П. Книш. – Вивчено динаміку вмісту амінокислоти проліну в наземних органах різних видів деревних плодових ліан – представників родів *Actinidia* Lindl., *Schisandra* Blume та *Vitis* L., інтродукованих у Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України. Встановлено, що вміст проліну, як показник реакції рослинного організму на дію стресових факторів, є видоспецифічною ознакою деревних ліан. Динаміка вмісту проліну в пагонах і листі рослин у певній мірі відображає відповідність умов вирощування рослин їх адаптивному потенціалу і, відповідно, може слугувати критерієм прогнозування успішності інтродукції рослин в нових умовах зростання.

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ПРОЛИНА И АДАПТАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ДРЕВЕСНЫХ ЛИАН ПРИ ИНТРОДУКЦИИ В ЛЕСОСТЕПИ УКРАИНЫ. Н.В. Скрипченко, О.И. Дзюба, В.П. Книш. – Изучена динамика содержания аминокислоты пролина в надземных органах разных видов древесных плодовых лиан – представителей родов *Actinidia* Lindl., *Schisandra* Blume и *Vitis* L., интродуцированных в Национальном ботаническом саду им. Н.Н. Гришко НАН Украины. Установлено, что накопление пролина, как показатель реакции растительного организма на действие стрессовых факторов, является видоспецифическим признаком древесных лиан. Динамика содержания пролина в побегах и листьях растений в определенной мере отображает соответствие условий выращивания растений их адаптивному потенциалу и, соответственно, может служить критерием прогнозирования успешности интродукции растений в новых условиях произрастания.

DYNAMICS OF PROLINE CONTENT AND ADAPTATION ABILITY OF ARBOREAL LIANES UNDER INTRODUCTION IN TO THE FOREST STEPPES OF UKRAINE. N.V. Skrypchenko, O.I. Dzuba, V.P. Knish. – The dynamics of proline content in above-ground parts of various species of fruit woody vines of the genus *Actinidia* Lindl., *Schisandra* Blume and *Vitis* L., which are introduced in M.M. Grishko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, was studied. The accumulation proline as the indicator of reaction of plant organism on the act of stress factors is the specific feature of woody vines. Dynamics of the proline accumulation in shoots and leaves of plants shows a correspondence of growth conditions of plants to their adaptive potential and can serve as the criteria of success of introduction of the plants in the new conditions of growth.

Життєздатність і продуктивність рослин, здатність до відтворення і розселення на нових територіях залежать від їх пластичності і адаптивності до нових умов зростання. В межах норми реакції рослинний організм реагує на вплив несприятливих зовнішніх факторів на рівні цілісного організму, що відображається у анатомо-морфологічних, біохімічних, молекулярних змінах. В певних екологічних умовах в рослинному організмі відбуваються зміни фізіологічних функцій, які є основними формами пристосування і стабілізації обміну речовин, детермінованими особливостями їх генотипу. У відповідь на дію стресових факторів різної природи клітини вищих рослин акумулюють різні амінокислоти, серед яких особлива роль належить проліну (Стаценко, Перуанская, 1983; Игнатенко, 1984; Пустовойтова, Желкевич, 1992; Guy et al, 2008). Пролін – амінокислота, яка у вільному стані та у молекулі білка є обов'язковою складовою рослинної клітини. Як важли-

вий компонент низькомолекулярної антиоксидантної системи, він регулює цілий ряд метаболічних процесів, що відбуваються під впливом несприятливих факторів середовища (Кения, Лукаш, Гуськов, 1993; Кузнецов, Шевякова, 1999; Khan, Mc Neilly, Collins, 2000). Вільний пролін при стресі має багатофункціональні захисні властивості – його вміст у багато разів зростає в умовах посухи, засолення, дії низьких температур та інших факторів, що сприяють зниженню водного потенціалу клітинного соку (Мусієнко, 2001; Vendruscolo, Schuster, Pileggi, 2007). Здатність проліну підвищувати стійкість рослин до стресів відмічається на різних етапах клітинного метаболізму. Саме з цієї причини припускається, що пролін підвищує здатність рослин виживати в умовах дії стресорів різної фізичної природи. Проліну належить важлива роль у осморегуляції рослинної клітини. Суперпродукція вільного проліну в умовах водного дефіциту призводить до підвищення осмотичного тиску клітинного соку й супроводжується підвищенням стійкості рослин на фоні зниження водного потенціалу ґрунтового розчину (Шевякова, 1983; Франко, Мело, 2000; Самойлова, 2009).

Інтродукція й акліматизація нових та малопоширених плодових рослин в Україні сприяє збагаченню біорізноманіття нашої флори. Поміж перспективних плодових рослин для Лісостепу України важливе місце займають деревні плодові ліани – представники родів *Actinidia* Lindl., *Schisandra* Blume, *Vitis* L., плоди яких вирізняються цінними харчовими і лікарськими властивостями. Це представники реліктової флори неогенового періоду, які успішно інтродуковані в Правобережному Лісостепу України (Культурная флора России, 2007). Багаторічні спостереження за насадженнями деревних плодових ліан в Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України (НБС) показали, що на процес їх життєдіяльності суттєво впливають окремі абіотичні фактори. Оскільки успішність інтродукції рослин залежить від їх життєздатності в нових умовах зростання, з'ясування адаптивних механізмів реліктових рослин має важливе теоретичне і практичне значення. Тому метою нашої роботи було дослідження динаміки вмісту проліну в вегетативних органах деревних ліан як показника стійкості до несприятливих факторів середовища.

Матеріали і методи

Об'єктами дослідження слугували чоловічі та жіночі рослини *Actinidia arguta* Planck., *A. kolomikta* (Rupr.) Maxim., *A. purpurea* Rehd., *A. polygama* (Sieb. et Zucc.) Maxim., а також особини *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. та *Vitis labrusca* L., які успішно інтродуковані і зростають в колекції НБС. Кількісний вміст проліну визначали за методикою L.S. Bates, R.R. Valdren, G.D. Theare (1993). Рослинний матеріал (0,5 г) гомогенізували в 15–20 мл трипроцентного водного розчину сульфосаліцилової кислоти, гомогенат відфільтровували через ватман та подвійний фільтрувальний папір. Після цього 2 мл фільтрату додавали до суміші, що складається з 2 мл кислого нінгідрину та 2 мл льодової оцтової кислоти і витримували в пробірці протягом 1 години при 100°C (Стаценко, 1994). Реакцію фільтрату з сумішшю зупиняли в льодовій бані, суміш екстрагували толуолом (4 мл), ретельно перемішуючи протягом 15–20 секунд. Забарвлений розчин, що містив толуол, відокремлювали від водної фази, нагрівали до кімнатної температури та спектрофотометрично досліджували при довжині хвилі 520 нм, використовуючи толуол як контроль. Концентрацію проліну визначали за стандартною кривою та обчислювали в перерахунку на масу сирої речовини. Відомості про зміни температурного чинника протягом року отримували з інтернет-сайту Gismeteo, архівних даних для м. Києва. Аналіз і статистичну обробку експериментальних даних проводили на комп'ютері з використанням програми Microsoft Excel.

Результати та обговорення досліджень

Для переважної більшості інтродуцентів в умовах Правобережного Лісостепу України критичним відрізком існування є зимовий період, коли рослини знаходяться під впливом комплексу ушкоджуючих чинників, серед яких низька температура. Найнебезпечнішими для рослин є різкі зниження температури на початку осінньо-зимового періоду та наприкінці зими, коли морозостійкість рослин значно знижується. Дослідження динаміки вмісту проліну в пагонах ліан в період з вересня 2011 року до квітня 2012 року свідчать,

що дані показники значно варіюють залежно від виду і фази розвитку рослин, вологості та температури повітря. Так, у вересні, коли рослини переходять до стану спокою, для них характерні показники від 0,5 ммоль/г у *A. kolomikta* чоловічої статі до 2,2 ммоль/г у с. Київська крупноплідна. Дещо вищі показники відмічено для жіночої *A. polygama* – 3,5 ммоль/г. В період спокою водночас зі зниженням температури кількість проліну в пагонах дослідних рослин збільшується. Найвищі показники були відмічені за значного зниження температури, коли вони зросли для актинідії *A. purpurea* та *A. polygama* в 2–3 рази. Це, на нашу думку, пов'язано з їх походженням – перший з них інтродукований з південних областей Китаю, в той час як північні межі ареалу іншого виду знаходяться значно південніше порівняно з рештою видів-інтродуцентів Далекого Сходу Росії. Слід зазначити, що чоловічі екземпляри актинідії в цей період вирізнялись вищими показниками вмісту проліну порівняно з жіночими: для сорту-запилювача Дон Жуан він становив 7,8 ммоль/г, в той час як для с. Київська крупноплідна – лише 1,3 ммоль/г; для чоловічої рослини *A. polygama* – 5,2, а для жіночої – 2,8 ммоль/г. Це вказує на дещо вищий адаптаційний потенціал жіночих рослин актинідії порівняно з чоловічими. Відповідно динаміку вмісту проліну в пагонах актинідії можна вважати показником адаптації рослин до умов інтродукції, які значно відрізняються від умов їх природного зростання. У пагонах найбільш зимостійких видів, інтродукованих з Далекого Сходу Росії, *S. chinensis* та *A. kolomikta*, а також *V. labrusca*, інтродукованого з Північної Америки, відмічались незначні коливання досліджуваних показників у відповідь на суттєві зниження середньодобової температури (рис. 1).

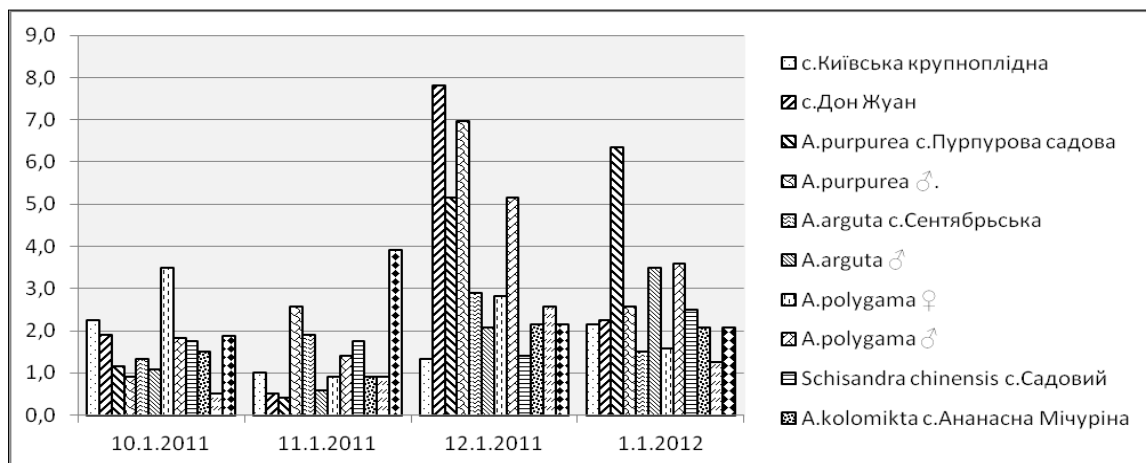


Рис. 1. Вміст проліну в пагонах ліан в період спокою (ммоль/г)
(♀ – жіночі, ♂ – чоловічі рослини)

Упродовж вегетації вміст проліну визначали у листках дослідних рослин. Погодні умови вегетаційного періоду 2012 року характеризувались певними особливостями: температурний режим відзначався більш високими середньомісячними показниками порівняно із середньобогаторічними. Були відмічені два періоди посухи з високими середньодобовими температурами: перший в кінці квітня – на початку травня, другий – у серпні. Реакцією рослин на них стало значне підвищення вмісту проліну – показники зросли у деяких варіантах в десятки разів порівняно з періодом без екстремально високих температур. Високі показники були виявлені у дослідних зразках в період весняної посухи, коли температура повітря сягала 32–35°C (рис. 2). Значно більшою кількістю проліну в цей період вирізнялись чоловічі екземпляри актинідії, що свідчить про їх вищу чутливість до посухи порівняно з жіночими. Водночас, для *A. arguta* вищий вміст проліну було виявлено у листках жіночих рослин.

Для сортів гібридного походження та відібраних серед сіянців місцевої репродукції (с. Дон Жуан, с. Київська крупноплідна) не було зафіксовано значного підвищення кількості проліну навіть в цей період, що свідчить про їх значно вищий адаптаційний потенціал порівняно з вихідними формами. Подібна реакція на дію стресового фактора спостерігалась

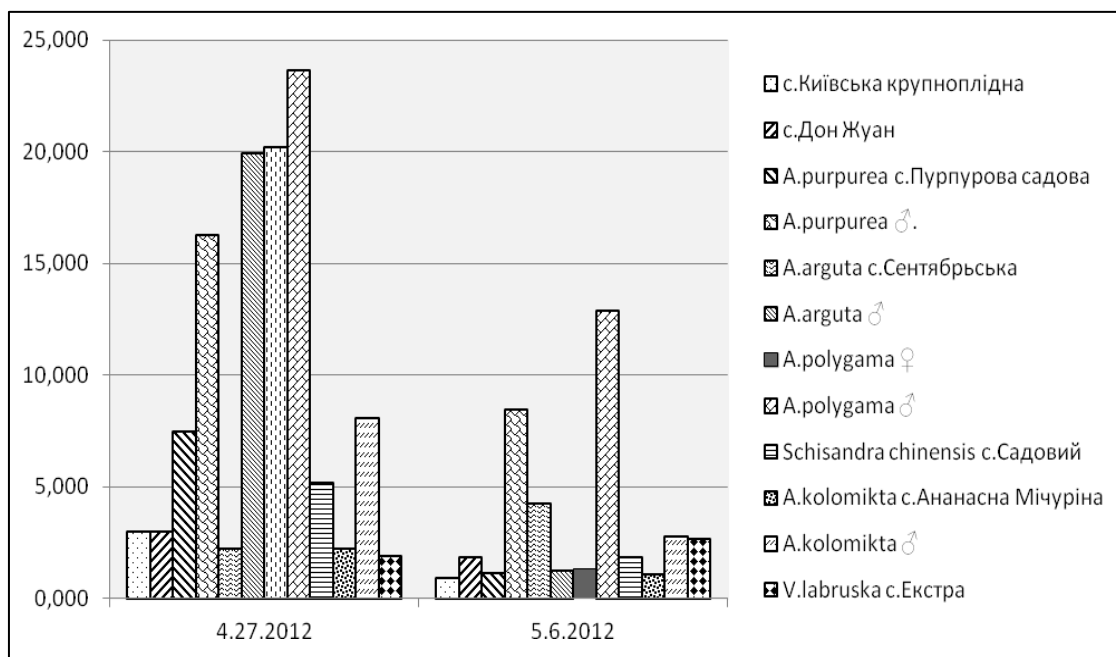


Рис. 2. Вміст проліну в листках ліан на початку вегетації (ммоль/г)
(♀ – жіночі, ♂ – чоловічі рослини)

також для *S. chinensis* та *V. labruska*. У фазу формування плодів кількісні показники проліну залишались невисокими і варіювали в межах від 1,5 до 5 ммоль/г. Але в спекотний період, коли температура повітря піднімалась до 40°C, було зафіксовано значне збільшення кількості проліну в листках досліджуваних рослин, що розглядається авторами як відповідь їх на дію стресового фактора (рис. 3). За тиждень після зниження температури до 20°C і підвищення вологості за рахунок опадів кількість проліну в дослідних зразках значно зменшилась.

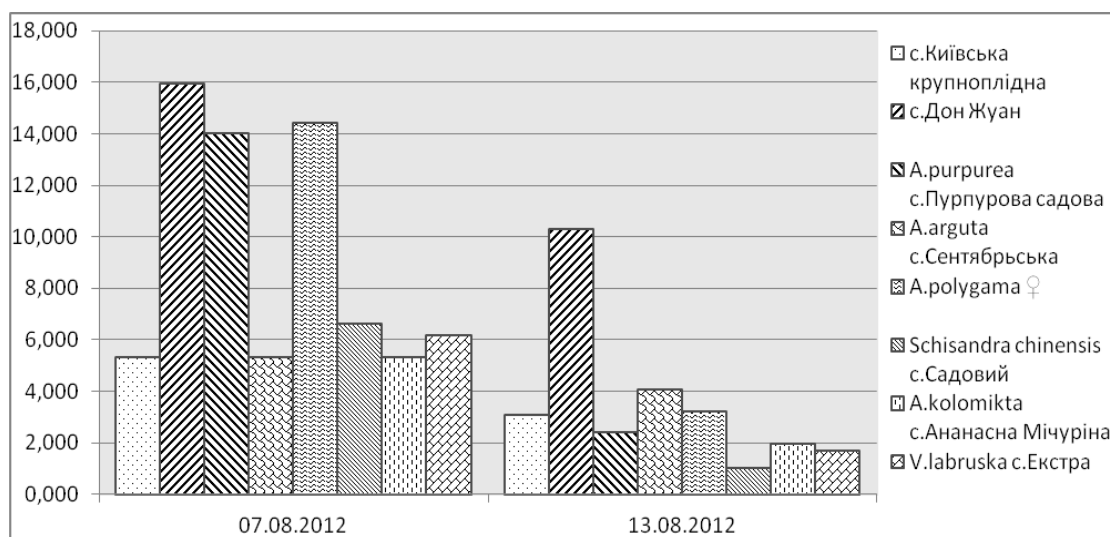


Рис. 3. Вміст проліну в листках деревних ліан в період літньої посухи (ммоль/г)

Водночас, було відмічено підвищену посухостійкість видів актинідії сортів Київська крупноплідна та Сентябрьська, а також *A. kolomikta*, *S. chinensis* та *V. labruska*, в листках яких вміст проліну у відповідь на значне підвищення температури характеризувався набагато нижчими показниками порівняно з *A. polygama*, *A. purpurea* та сорту Дон Жуан.

Аналіз отриманих даних під час весняного та літнього посушливого періоду вказує на те, що серед дослідних зразків найбільш посухостійкими видами виявились *S. chinensis*, *V. labruska*, та жіночі сорти *A. kolomikta*, *A. arguta*, зокрема, с. Київська круп-

ноплідна. Низькою посухостійкістю вирізнялись рослини *A. polygama* та чоловічі рослини *A. arguta* і *A. purpurea*.

Варто зазначити, що в посушливий період рослини *S. chinensis* за умов зрошення та рослини, які зростали без поливу, характеризувались різним вмістом проліну. Так, для перших він становив 5,64 ммоль/г, в той час, як для рослин без поливу був майже вдвічі вищим і сягав 9,87 ммоль/г. За тиждень після опадів дані показники стали майже однаковими в обох варіантах. Отримані результати вказують на те, що пролін є одним із компонентів стрес-реакції, який швидко акумулюється в вегетативних органах деревних ліан у відповідь на дію екстремальних факторів.

Поміж представників роду *Actinidia* є два види – *A. kolomikta* та *A. polygama* – яким властиве явище строкатості листків: частина листків змінює забарвлення протягом періоду вегетації. На підставі попередньо проведених досліджень було встановлено, що строкатолістність є захисною реакцією рослин на високу інтенсивність сонячної радіації, оскільки явище найбільш виражене саме в період з найвищою інсоляцією (Скрипченко, Левон, Дзюба, 2012). В зв'язку з цим дослідили динаміку вмісту проліну у строкатолістих видів актинідії, його кількість визначали у листках з різним забарвленням на одній рослині. Встановлено, що на початку зміни забарвлення частиною листків *A. kolomikta* (в фазу бутонізації) кількість проліну в них була більшою порівняно зі стабільно зеленими. На початку цвітіння рослин кількість листків з частково сріблястою поверхнею листової пластинки збільшилась, окремі листки повністю змінили забарвлення на сріблясте, а інші – почали змінювати на малинове. В цей період найвищий вміст проліну відмічався саме в повністю сріблястих і частково малинових листках (рис. 4). Так, для зелених листків чоловічих рослин *A. kolomikta* він становив 2,57 ммоль/г, в той час як для частково забарв-

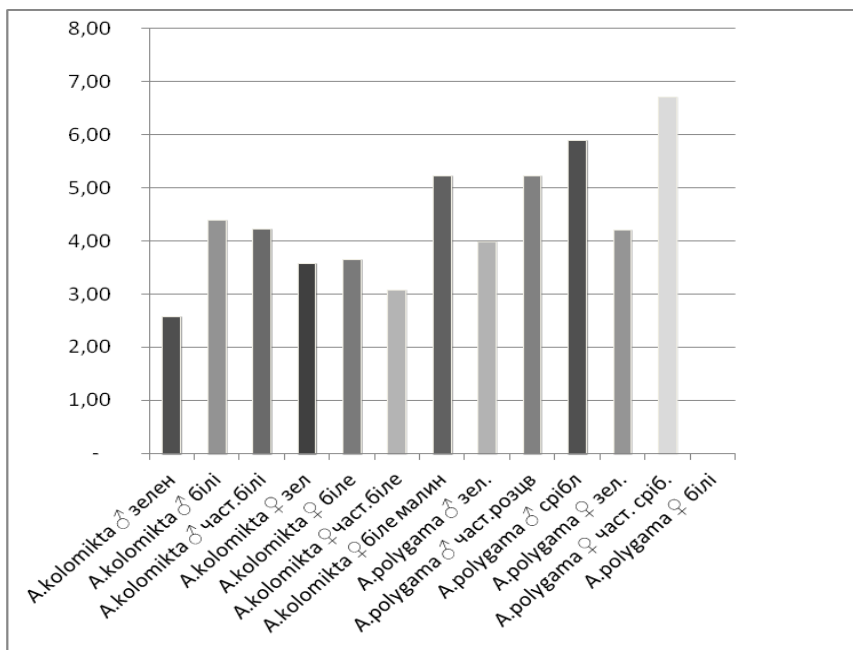


Рис. 4. Вміст проліну в листках *A. kolomikta* та *A. polygama* з різним забарвленням (ммоль/г)

лених – 3,90 ммоль/г, а для повністю сріблястих – 5,08 ммоль/г. Це вказує на те, що листки однієї рослини по-різному реагують на вплив стресового фактора і, можливо, ті, що повністю змінюють забарвлення, виконують функцію захисту по відношенню до зелених і рослинного організму в цілому. Під кінець фази цвітіння найвищий вміст проліну було виявлено в листках з малиновим забарвленням. Надалі кольори строкатих листків темніють, втрачають яскравість, водночас в них зменшується кількість проліну. Це доводить, що показники вмісту проліну можуть розглядатись як критерій діагностики стресового стану рослин *A. kolomikta* у відповідь на високу інтенсивність сонячної радіації.

Подібна тенденція зміни забарвлення листків, а, відповідно, і кількості пролінів, спостерігалась і в іншого виду актинідії – *A. polygama*. Хоча зміна забарвлення листків

цього виду відбувається значно пізніше порівняно з попереднім, але вона також припадає на фази бутонізації та цвітіння. Це може свідчити про найбільшу чутливість рослин до дії високої інтенсивності сонячної радіації саме у ці фенофази.

Висновки

Виявлені зміни вмісту проліну в надземних органах різних видів деревних плодів ліан – представників роду *Actinidia*, *Schisandra* та *Vitis*, після короточасних температурних стресів у фазах активного росту та фізіологічного спокою, а також стресів, викликаних недостатньою вологозабезпеченістю їх та високою інтенсивністю сонячної радіації, свідчать про активацію захисних процесів в рослинах у відповідь на дію стресових факторів. Встановлено, що види, які вирізняються високою стійкістю до тих чи інших з них, характеризуються більш стабільними показниками вмісту проліну і значно меншою амплітудою їх зміни. Отримані результати дозволяють розглядати кількісні показники вмісту проліну в вегетативних органах рослин як біологічний маркер при визначенні рівня їх стійкості, зокрема, термостійкості, за умов інтродукції.

- Игнатенко А. А. Роль свободных аминокислот в адаптации растений к промышленному загрязнению / А. А. Игнатенко // Актуальные задачи физиологии и биохимии растений в ботанических садах. – Пушино, 1984. – С. 88–89.
- Кения М. В. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе / М. В. Кения, А. И. Лукаш, Е. Н. Гуськов // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113, № 4. – С. 456–470.
- Кузнецов В. В. Проллин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция / В. В. Кузнецов, Н. И. Шевякова // Физиол. растений. – 1999. – Т. 46, № 2. – С. 321–336.
- Культурная флора России. Актинидия. Лимонник / под ред. И. М. Куликова. – М. : Россельхозакадемия, 2007. – 327 с.
- Мусієнко М. М. Фізіологія рослин : Підручник / М. М. Мусієнко. – Фітосоціоцентр, 2001. – 392 с.
- Пустовойтова Т. Н. Основные направления в изучении влияния засухи на физиологические процессы у растений / Т. Н. Пустовойтова, В. Н. Желкевич // Физиология и биохимия культурных растений. – 1992. – Т. 24, № 1. – С. 14–26.
- Самойлова М. В. Вміст проліну у вегетативних органах рослин-інтродуцентів роду *Amelanchier* Med. / М. В. Самойлова // Фундаментальні та прикладні дослідження в біології : мат. I Між-нар. наук. конф. студ., аспір. та мол. вчених (23–26 лютого 2009 р., м. Донецьк). – Т. 2. – Донецьк : Вебер, 2009. – С. 307–308.
- Стаценко А. П. Накопление свободных аминокислот и морозоустойчивость озимой пшеницы / А. П. Стаценко, О. Н. Перуанская // Вестник с.-х. науки Казахстана. – 1983. – № 3. – С. 35–37.
- Стаценко А. П. О роли свободного пролина в криоадаптации озимых растений // Физиология и биохимия культурных растений. – 1994. – Т. 26, № 5. – С. 509–513.
- Скрипченко Н. В. Строкатість листків актинідії як адаптивний механізм захисту рослин / Н. В. Скрипченко, В. Ф. Левон, О. І. Дзюба // Вісті біосферного заповідника "Асканія-Нова", 2012. – Т. 14. – С. 253–258.
- Франко О. Л. Осмопротекторы: ответ растений на осмотический стресс / О. Л. Франко, Ф. Р. Мело // Физиология растений. – 2000. – Т. 47, № 1. – С. 152–159.
- Шевякова Н. И. Метаболизм и физиологическая роль пролина в растениях при водном и солевом стрессе / Н. И. Шевякова // Физиология растений. – 1983. – Т. 30, вып. 4, № 3. – С. 768–783.
- Bates L. S. Rapid determination of free proline for water-stress studies / L. S. Bates, R. R. Valdren, G. D. Theare // Plant and soil. – 1993. – N 1. – P. 205–207.
- Guy C. Metabolites of temperature stress / C. Guy, F. Kaplan, J. Kopka, D. K. Hinch // Physiol. Plant. – 2008. – Vol. 132, N 2. – P. 220–235.
- Khan A. A. Accumulation of amino acids, proline and manganese stress in maize / A. A. Khan, B. I. Mc Neilly, J. K. Collins // J. Plant Nutr. – 2000. – Vol. 23, N 9. – P. 1303–1314.
- Vendruscolo E. C. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat / E. C. Vendruscolo, I. Schuster, M. Pileggi et al. // J. Plant Physiol. – 2007. – Vol. 164, N 10. – P. 1367–1376.

Рекомендує до друку
Н.О. Гавриленко