

УДК 581.1

РІСТ РОСЛИН ПРИ РІЗНИХ ТЕМПЕРАТУРНИХ УМОВАХ: ЧИ ВІДРІЗНЯЮТЬСЯ РОСЛИНИ АНТАРКТИКИ

Н.А. Матвєєва, С.Е. Чапкевич, К.О. Дробот, В.П. Дуплій

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,
Україна, Київ, вул. ак. Заболотного, 148, joyna56@gmail.com

Реферат. Досліджено вплив знижених (+3°C) та підвищених (+36°C) температур на приріст маси та накопичення поліфруктанів у рослинах *Warnstorfia fontinaliopsis* (Müll. Hal.) Ochyra та *Lemna minor* L. Показано, що дія знижених та підвищених температур (+3°C та +36°C) на рослини антарктичного моху *W. fontinaliopsis* та на рослини ряски *L. minor* має схожий характер і виражається у зниженні приросту маси рослин (Δm), причому чим більший термін дії зниженої температури на рослини, тим значнішим є зменшення приросту маси.

Дія температури +3°C протягом нетривалого періоду (2 доби) практично не впливала на приріст маси рослин *W. fontinaliopsis*. За таких умов зміна приросту маси ($\Delta m = 0,023$ г) була подібною для контрольних рослин, які вирощували при +24°C. Більш тривалий термін вирощування при зниженій температурі (15 та 30 діб) призводив до значного зменшення приросту маси рослин моху – відповідно у 2,01 та 2,33 рази у порівнянні з контролем, причому при найбільшому періоді дії зниженої температури приріст маси був найменшим: $\Delta m = 0,01$ г.

Рослини ряски виявились більш чутливими до тривалої дії зниженої температури, оскільки при культивуванні у таких умовах зменшення приросту маси становило у *L. minor* та *W. fontinaliopsis* відповідно 7 та 2,3 рази в порівнянні з контролем.

Виявлено відмінності накопичення поліфруктанів при зміні температурних умов у рослин *W. fontinaliopsis* та *L. minor*. Вміст поліфруктанів у рослинах ряски при дії стресових температур підвищувався, в той же час у рослин *W. fontinaliopsis* достовірних змін не було. Можна припустити, що у рослин *W. fontinaliopsis* існують механізми захисту від низьких температур, відмінні від таких, що є в рослин *L. minor*.

Ключові слова: температурний стрес, *Warnstorfia fontinaliopsis* (Müll. Hal.) Ochyra, *Lemna minor* L.

Рост растений при разных температурных условиях: отличаются ли растения Антарктики. Матвеева Н.А., Чапкевич С.Э., Дробот Е.А., Дуплий В.П.

Реферат. Исследовано влияние пониженных (+3°C) и повышенных (+36°C) температур на прирост массы и накопление полифруктанов в растениях *Warnstorfia fontinaliopsis* (Müll. Hal.) Ochyra и ряски *Lemna minor* L. Показано, что действие пониженных и повышенных температур на растения антарктического мха *W. fontinaliopsis* и на растения ряски *L. minor* имеет схожий характер и выражается в снижении прироста массы растений (Δm), причем чем больше срок действия пониженной температуры на растения, тем существеннее уменьшается прирост массы.

Действие температуры +3 °C в течение непродолжительного периода (2 суток) практически не влияло на прирост массы растений *W. fontinaliopsis*. При таких условиях изменение в приросте массы ($\Delta m = 0,023$ г) было аналогичным и для контрольных растений, которые выращивали при +24 °C.

Увеличение сроков выращивания при пониженной температуре (15 и 30 суток) приводило к значительному уменьшению прироста массы растений мха – соответственно в 2,01 и 2,33 раза по сравнению с контролем, причем при более длительном воздействии пониженной температуры прирост был наименьшим ($\Delta m = 0,01$ г).

Растения ряски оказались более чувствительными к длительному воздействию пониженной температуры, поскольку при культивировании в таких условиях уменьшение прироста массы составило для *L. minor* и *W. fontinaliopsis* соответственно 7 и 2,3 раза по сравнению с контролем.

Выявлены различия накопления полифруктанов при изменении температурных условий у растений *W. fontinaliopsis* и *L. minor*. Содержание полифруктанов в растениях ряски при действии стрессовых температур повышалось, в то же время у растений *W. fontinaliopsis* достоверных изменений не было. Можно предположить, что у растений мха *W. fontinaliopsis* механизмы защиты от низких температур отличаются от таковых у растений *L. minor*.

Ключевые слова: температурный стресс, *Warnstorfia fontinaliopsis* (Müll. Hal.) Ochyra, *Lemna minor* L.

Growth of plants under different temperature conditions: are the Antarctic plants unique.

Matvieieva N., Chapkevich S., Drobot K., Duplij V.

Abstract. The influence of low (+3 °C) and high (+36 °C) temperatures on the growth rate and polyfructan accumulation in the plants of *Warnstorfia fontinaliopsis* (Müll. Hal.) Ochyra and duckweed (*Lemna minor* L.) has been investigated. There was the similar decreasing of plants weight growth for Antarctic moss *W. fontinaliopsis* and for the duckweed as a result of low or high temperature treatment.

Short period (2 days) of cultivation under the +3 °C had no effect on the weight increase of *W. fontinaliopsis*. Under these conditions changes in weight increment $\Delta m = 0,023$ g was the same as for control plants that were grown at +24 °C. Longer cultivation at low temperatures (15 and 30 days) resulted in the significant (2.01 and 2.33 times respectively) decreasing of moss weight gain. In the last case weight increase was only 0.01 g.

Duckweed plants were more susceptible to prolonged exposure (30 days) of low temperature. Culturing in such conditions led to 7 times reduction of weight increment comparatively to weight increase of untreated *L. minor* plants. *W. fontinaliopsis*, in contrast, shows only 2.3 times reduction of weight increase.

The differences in accumulation of polyfructans after low or high temperature treatment of *W. fontinaliopsis* and *L. minor* were shown. Increasing of polyfructan content under the stressful conditions has been observed only in duckweed plants. Probably, moss *W. fontinaliopsis* and *L. minor* have different protective mechanisms against stressful temperatures.

Key words: temperature stress, *Warnstorfia fontinaliopsis* (Müll. Hal.) Ochyra, *Lemna minor* L.

1. Вступ

Температура є одним із найбільш важливих чинників, що впливають на ріст рослин. Високі та низькі температури, що виходять за межі оптимуму, є стресовими. При дії таких факторів зменшується приріст маси, порушуються процеси утворення насіння, відбуваються зміни у синтезі та накопиченні запасних сполук (Peng et al., 2004; Tashiro et al., 1991; Zakaria et al., 2002). Низькі температури можуть призводити, наприклад, до активізації гідролізу крохмалю та збільшення вмісту сахарози в клітинах (Stitt et al., 2002; Guo et al., 2008). Актуальним є розуміння фізіологічних процесів адаптації або загибелі рослин при дії абіотичних стресів, зокрема, температури. Рослини Антарктики пристосувалися до виживання в екстремальних умовах, у тому числі до різких коливань температури та низьких абсолютних температур. Тому становить інтерес визначити, чи існують особливості відповіді антарктичних рослин на дію температури як стресового чинника.

2. Матеріали та методи досліджень

Об'єктами досліджень були рослини моху *Warnstorfia fontinaliopsis* (Müll. Hal.) Ochyra та рослини ряски *Lemna minor* L. Культивовані *in vitro* рослини моху *W. fontinaliopsis* було отримано нами раніше шляхом поверхневої стерилізації пагонів (Матвеева та ін., 2010) з нативних зразків, наданих Національним антарктичним науковим центром. Зразки було зібрано у 2009 р. на біогеографічному полігоні о-ва Галіндез, Західна Антарктика. Рослини ряски *Lemna minor* L. було взято з природної водойми озера Опечень, Київ, та введено в стерильну культуру (Матвеева та ін., 2011).

Рослини (рис. 1) вирощували у стерильних умовах на середовищі 1/2МС (середовище Мурасіге та Скуга (Murashige, Skoog, 1962) зі зменшеним удвічі вмістом макроелементів). Тривалість вирощування становила 30 діб. Варіанти експерименту відрізнялися температурним режимом: 30 діб при температурі +24°C (контроль); 2, 15, 30 діб при +3°C; 2 доби при

+36°C, далі – при температурі +24°C. Вплив різних температурних умов на ріст рослин визначали за приростом маси та вмістом поліфруктанів. Масу рослин вимірювали перед початком культивування (m_0) та через 30 діб (m_1). Приріст маси визначали як $\Delta m = m_1 - m_0$.

Для визначення вмісту поліфруктанів (ПФ) наважку 0,05 г рослинного матеріалу розтирали у 2 мл гарячої дистильованої води, витримували протягом 10 хв. на водяній бані при температурі +80°C. До 2 мл екстракту додавали 2 мл 0,1% розчину резорцину в 96% спирті та 2 мл 80% соляної кислоти. Розчини нагрівали на водяній бані при температурі +80°C протягом 20 хв. Концентрацію поліфруктанів визначали на спектрофотометрі Eppendorf при 550 нм (калібрування по фруктозі) (Ермаков и др., 1987).



Рис. 1. Об'єкти досліджень – культивовані *in vitro* рослини *W. fontinaliopsis* (ліворуч) та *L. minor* (праворуч).

3. Результати та їх обговорення

Дія зниженої температури (+3°C) протягом нетривалого періоду – 2 доби – практично не впливала на приріст маси (Δm) рослин *W. fontinaliopsis* (рис. 2). За таких умов $\Delta m = 0,023$ г так само, як і для контрольних рослин, вирощуваних при +24°C. Більш тривалий термін вирощування при зниженій температурі (15 та 30 діб) призводив до значного зменшення приросту маси рослин моху – відповідно у 2,01 та 2,33 раза порівняно з контролем, причому цілком закономірно, що при найбільшому періоді дії зниженої температури приріст маси був найменшим: $\Delta m = 0,01$ г.

Підвищення температури вирощування протягом 2 діб до +36°C також зменшувало приріст маси рослин у 2,11 раза порівняно з контролем. Таким чином, дія як зниженої (+3°C), так і підвищеної (+36°C) температур пригнічувала ріст досліджуваних рослин *W. fontinaliopsis*. Разом з тим, як свідчать отримані результати, підвищена температура більш негативно впливала на рослини *W. fontinaliopsis*, оскільки при дводенному підвищенні температури приріст маси був порівнянним із приростом маси при п'ятнадцятиденній дії зниженої до +3°C температури.

Відомо, що рослини можуть реагувати на температурний стрес зміною вмісту фруктанів. Наприклад, перенесення рослин з 20°C до 5°C призводило до 3–10-разового збільшення вмісту фруктанів (Chatterton et al., 1987). Температура 5°C також призводила до накопичення фруктанів у рослинах *Lolium temulentum* (Pollock, 1984).

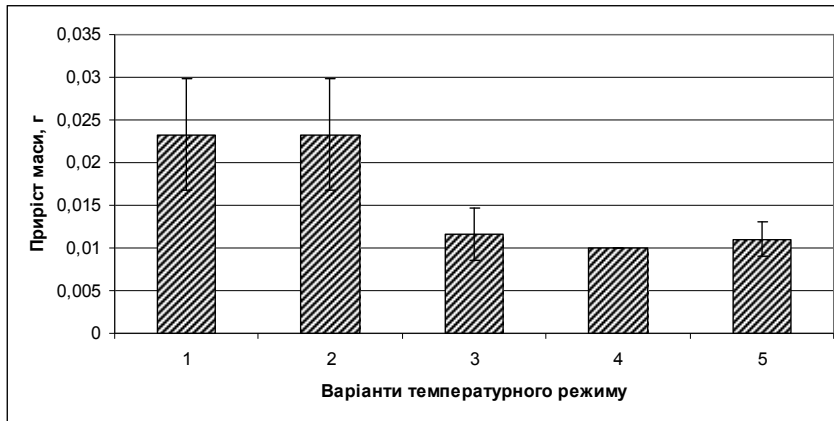


Рис. 2. Залежність приросту маси рослин *W. fontinaliopsis* від температурних умов (вирощування *in vitro*): 1 – +24°C; 2 – 2 доби +3°C; 3 – 15 діб +3°C; 4 – 30 діб +3°C; 5 – 2 доби +36°C.

В наших експериментах вміст поліфруктанів у рослинах моху становив від 213 до 312 мг/г сухої маси залежно від температурного режиму. Хоча при дводенному підвищенні температури до +36°C абсолютне значення кількості поліфруктанів виявилось найвищим, достовірні відмінності між вмістом ПФ при культивуванні за різних температурних умов були відсутні (рис. 3).



Рис. 3. Вміст поліфруктанів у рослинах *W. fontinaliopsis* при культивуванні в різних температурних умовах: 1 – +24°C; 2 – 2 доби +3°C; 3 – 30 діб +3°C; 4 – 2 доби +36°C.

При культивуванні рослин ряски в аналогічних температурних умовах виявили таку динаміку приросту маси. Відмінності у прирості маси рослин після зниження температури до +3°C протягом лише 2 діб та в контролі знаходились у межах статистичної похибки (рис. 4). Але більш тривале вирощування при зниженій температурі призводило до достовірного зменшення приросту маси рослин порівняно з приростом маси у контрольних рослин в 1,9 раза. Найменший приріст маси спостерігали в рослин, які найдовше культивували при зниженій до +3°C температурі, – він виявився в сім разів меншим, ніж у контролі. Підвищена температура (+36°C, 2 доби) також негативно впливала на приріст маси рослин, зменшуючи показник у 2,5 раза порівняно з контролем.

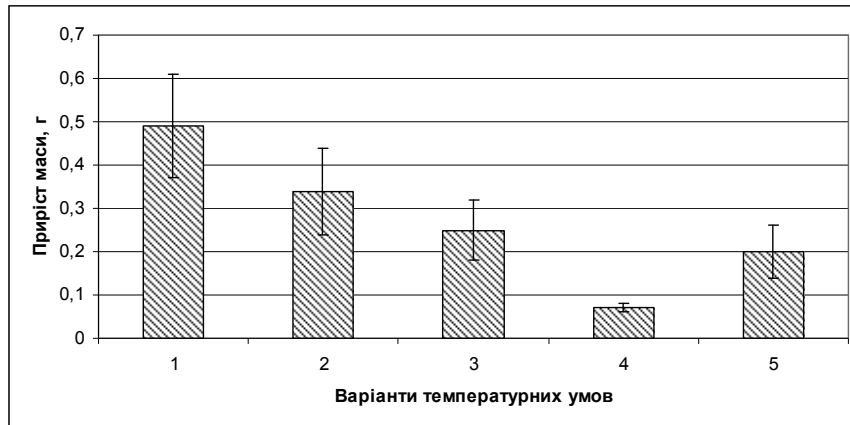


Рис. 4. Залежність приросту маси рослин ряски від температурних умов (вирощування *in vitro*): 1 – +24°C; 2 – 2 доби +3°C; 3 – 15 діб +3°C; 4 – 30 діб +3°C; 5 – 2 доби +36°C.

Будь-яка зміна температури (зниження до +3°C або підвищення до +36°C) призводила до збільшення вмісту поліфруктанів у рослинах ряски (рис. 5). Так, зниження протягом двох або 30 діб температури до +3°C підвищувало вміст поліфруктанів порівняно з контролем в 1,3 та 1,5 раза відповідно, дводенне підвищення температури до +36°C збільшувало вміст поліфруктанів в 1,7 раза.

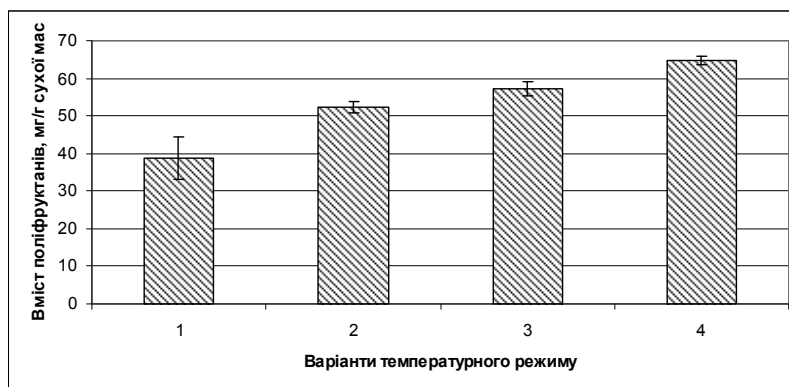


Рис. 5. Вміст поліфруктанів у рослинах ряски при культивуванні в різних температурних умовах: 1 – +24°C; 2 – 2 доби +3°C, далі +24°C; 3 – 30 діб +3°C, потім +24°C; 4 – 2 доби +36°C, потім +24°C.

Порівняння відповідей на температурний стрес за приростом маси рослин моху *W. fontinaliopsis*, пристосованих до екстремальних умов, та ряски, рослини помірного клімату, показало наявність схожої тенденції як при підвищенні, так і при зниженні температури. Так, для рослин обох видів спостерігали відсутність статистично достовірних відмінностей у прирості маси при нетривалому періоді дії низької температури, достовірне зменшення приросту маси при більш тривалій дії зниженої до +3°C температури та зниження приросту маси у порівнянні з контролем при підвищенні температури до +36°C. Разом з тим пригнічення росту при тривалій дії зниженої температури виявилось значно більшим у рослин ряски (в сім разів). Наявність таких відмінностей, вірогідно, пов'язана з різним середовищем існування рослин. Мох *W. fontinaliopsis* адаптований до екстремальних умов Антарктики, отже, можливо, нетривала дія пониженої температури не є стресом для цих рослин.

Що стосується накопичення поліфруктанів при зміні температурних умов культивування, то у рослин *W. fontinaliopsis* та *L. minor* спостерігали відмінності. Вміст поліфруктанів у рослинах ряски при дії стресових температур підвищувався у 1,3–1,7 раза, а для рослин антарктичного моху достовірних відмінностей не спостерігали. Такі особливості в накопиченні поліфруктанів у рослинах моху, можливо, відбуваються за наявності інших, ніж у ряски, механізмів захисту рослини від температурного стресу або внаслідок того, що зниження температури для антарктичної рослини є стресовим фактором у значно меншій ступені, аніж для рослин ряски.

4. Висновки

У результаті досліджень виявлено, що дія знижених і підвищених температур (+3°C та +36°C) на рослини антарктичного моху *W. fontinaliopsis* та на рослини ряски *L. minor* має схожий характер і виражається у зниженні приросту маси рослин, причому чим більший термін впливу зниженої температури на рослини, тим значнішим є зменшення приросту маси. Рослини ряски більш чутливі до тривалої (30 діб) дії зниженої температури, оскільки при культивуванні в таких умовах зменшення приросту маси становило у *L. minor* та *W. fontinaliopsis* відповідно 7 та 2,3 раза порівняно з контролем.

Виявлено відмінності накопичення поліфруктанів при зміні температурних умов у рослин *W. fontinaliopsis* та *L. minor*. Вміст поліфруктанів у рослинах ряски при дії стресових температур підвищувався, в той же час у рослин *W. fontinaliopsis* достовірних змін не було. Можна припустити, що у рослин моху *W. fontinaliopsis* існують механізми захисту від низьких температур, відмінні від таких, що є у рослин *L. minor*.

Література

- Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. и др.** Методы биохимического исследования растений. / Под ред. Ермакова А.И. Л.: Агропромиздат, Ленингр. отд. – 1987. – 429 с.
- Матвеева Н.А., Белокурова В.Б., Рудас В.А., Тыщенко О. В., Кучук Н.В.** Сохранение и микроразмножение *in vitro* растений Антарктики // Бiotехнология. – 2010. – Т.3, №3. – С.33–41.
- Матвеева Н.А., Кіщенко О.М., Шаховський А.М., Кучук М.В.** Перенесення в рослини ряски *Lemna minor* L. генів туберкульозних антигенів ESAT6 та AG85B шляхом *Agrobacterium rhizogenes* – опосередкованої трансформації // Бiotехнология. – 2011. – Т.4, № 2. – С. 46–53.
- Chatterton N.J., Harrison P.A., Bennett J.H. et al.** Fructan, starch and sucrose concentrations in crested wheatgrass and redtop as affected by temperature // Plant Physiol Biochem. – 1987. – vol. 25, № 5. – P. 617–623.
- Guy C., Kaplan F., Kopka J. et al.** Metabolomics of temperature stress // Physiologia Plantarum. – 2008. – vol.2, № 132. – P. 220–235.
- Murashige T., Skoog F.** A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture // Phys. Plant. – 1962. – vol. 15, № 3. – P. 473–497.
- Stitt M., Vaughan H.** A plant for all seasons: alterations in photosynthetic carbon metabolism during cold acclimation in Arabidopsis // Current Opinion in Plant Biology. – 2002. – vol. 5, № 3. – P. 199–206.
- Peng S., Huang J., Sheehy J.E., et al.** Rice yields decline with higher night temperature from global warming // Proc. Natl Acad. Sci. USA. – 2004. – Vol. 101, № 27. – P. 9971–9975.
- Pollock C.J.** Sucrose accumulation and the initiation of fructan biosynthesis in *Lolium temulentum* L. // New Phytol. – 1984. – Vol. 96, № 4. – P.527–534.
- Tashiro T. and Wardlaw I.F.** The effect of high temperature on the accumulation of dry matter, carbon and nitrogen in the kernel of rice // Aust. J. Plant Physiol. – 1991. – Vol. 18, № 3. – P. 259–265.
- Wagner W., Keller F., Wiemken A.** Fructan metabolism in cereals: Induction in leaves and compartmentation in protoplasts and vacuoles // Z Pflanzenphysiol. – 1983. – Vol. 112, № 1. – P. 359–372.
- Zakaria S., Matsuda T., Tajima S. and Nitta Y.** Effect of high temperature at ripening stage on the reserve accumulation in seed in some rice cultivars // Plant Prod. Sci. – 2002. – vol. 5, № 2. – P.160–168.