

**ДІАГНОСТИКА ЖАРОСТІЙКОСТІ РОСЛИН *LOLIUM PERENNE* L.  
ВІТЧИЗНЯНОЇ СЕЛЕКЦІЇ**

***О. Ю. Лещенко, аспірантка\****

***О. В. Колесніченко, доктор біологічних наук***

***А. Ф. Ліханов, кандидат біологічних наук***

***Національний університет біоресурсів і природокористування України***

*Наведено результати досліджень комплексної діагностики жаростійкості рослин сортів пажитниці багаторічної (*Lolium perenne* L.) української селекції під дією теплового шоку. Встановлено залежність між вмістом глутатіону (GSH) у листках та коренях і термотолерантністю рослин. Експериментально доведено наявність сортової специфічності рослин за термотолерантністю. Виділено сорти, які є перспективними для озеленення населених місць за умов високотемпературного стресу.*

***Ключові слова:*** високотемпературний стрес, пажитниця багаторічна, тепловий шок, термотолерантність.

Температура – абіотичний фактор, для якого характерні добові, сезонні та спорадичні коливання [19]. За даними міжнародної організації *Intergovernmental Panel on Climate Change* (2007), температура на планеті Земля зростає на 0,2°C за десятиліття, тобто до 2100 року показники середньомісячної температури будуть вищими на 1,8–4,0°C. Умови поступової аридизації і нестабільності клімату [4] вимагають від працівників зеленого господарства ретельнішого підбору асортименту декоративних рослин. Створення газонних покриттів не є виключенням, адже лише адаптований посадковий матеріал гарантує їх довговічність та декоративність. *Пажитниця багаторічна* – один із базових компонентів газонної травосуміші будь-якого призначення. Одним із лімітувальних факторів для пластичного обміну, нормального росту і розвитку

---

\* Науковий керівник – доктор біологічних наук, професор О.В. Колесніченко

рослин є висока температура [18]. Процес адаптації до зміни температурного режиму в рослинному організмі базується на складних механізмах формування конституційної й індукованої стійкості [13].

Жаростійкість рослин характеризується високою в'язкістю протоплазми та низкою особливостей метаболізму [11]. Відомо, що рослинні організми можуть витримувати високотемпературний стрес за рахунок двох процесів – уникнення або адаптації [18]. Перший характеризується продукуванням осмопротекторів, експресією білків, підвищенням рівня антиоксидантного захисту і контролю інтенсивності кутикулярної та продигової транспірації, другий – зміною просторової орієнтації та скручуванням листкової пластинки, транспіраційним охолодженням, ранньою стиглістю та перебудовою мембрано-ліпідного комплексу. Втім, за умов тривалої дії стресового чинника, перегріву рослинного організму або окремої частини відбувається зміна важливих фізіологічних процесів – зневоднення, гальмування росту, аномальний розвиток (тератогенез), пригнічення фотосинтезу, зміна фенології, зниження маси сухої речовини тощо.

Літературні дані свідчать [9, 12, 15], що у разі помірного прогрівання насіннєвого матеріалу різних еколого-біологічних груп рослин, за температур в діапазоні 30–60°C, відбувається порушення цілісності оболонки насіння, що стимулює або пригнічує його проростання. Зафіксовано, що прогрівання насіння злакових до 100 °C дещо знижує його схожість [3]. З'ясовано також, що тепловий стрес може викликати оксидантний стрес [21]. Відомо, що газони, які сформовані з жаростійких видів трав, на відміну від не жаростійких, за рахунок підвищеного синтезу аскорбінової кислоти та глутатіону (GSH) мають нижчий рівень продуктивності активної форми кисню (АФК) [22].

Стійкість склерофітів до впливу температур, вищих за оптимальні, є цінною властивістю багатьох злакових трав, у тому числі *L. perenne* L., тому вивчення фізіологічних механізмів їх жаростійкості й посухостійкості, комплексної адаптації має важливе значення у підборі комплексу заходів щодо створення високодекоративних газонів за умов міських екосистем [10].

**Мета досліджень** – провести діагностику жаростійкості рослин 5 сортів *Lolium perenne* L. вітчизняної селекції: Андріана-80, Лета, Литвинівський-1, Оріон і Святошинський; виділити перспективні сорти для озеленення населених місць за умов високотемпературного стресу.

**Матеріали та методика досліджень.** Ранню діагностику жаростійкості рослин проводили за методикою В. Г. Шахбазова (1981) [16]. Для цього відбирали здорове та нормально розвинене насіння. По 50 насінин кожного сорту в чотирьохкратній повторності заливали дистильованою водою (+21 °С) та прогрівали на водяній бані за температури +56 °С упродовж 20 хв. Як контроль використовували насіннєвий матеріал, який витримували у воді (+21 °С). Прогріте і не прогріте насіння (контроль) розкладали у чашки Петрі на фільтрувальний папір та ставили в сухо-повітряний термостат (2Ц – 450 М) за температури +21 °С. Окрім показників жаростійкості рослин, які визначали на 10 день, ми додатково на 5 та 10 добу досліджували енергію проростання та схожість насіння *нажитниці багаторічної* згідно з ГОСТ 12038-84 [1]. Морфометричні показники довжини коренів і листків обробляли статистично.

Жаростійкість рослин визначали за методикою Мацкова Ф. [8, 14]. У ході дослідження рослини (по 5 екз. кожного сорту) на 30 хв. занурювали у водяну баню (+40°C). Першу пробу листків із бані переносили в кристалізатор із водою кімнатної температури. Потім температуру водяної бані піднімали поступово на 10°C та через 10 хв. брали наступні проби. Далі замінювали воду в кристалізаторі на 0,2 N HCl та за 20 хв. отримували результати. Зруйновані високою температурою мембрани втрачали селективні властивості й пропускали кислоту, яка внаслідок феофітінізації хлорофілу викликала побуріння пластинок. За температури 90 °С (летальний рівень) дослід припиняли. Ступінь жаростійкості зразків визначали за часткою побурівших тканин листової пластинки за трьохбальною шкалою [8, 14]. В 1 бал (+) оцінювали рослини з мінімальними пошкодженнями листової поверхні, 2 бали (++) – 50 % та 3 бали (+++) – 100 % пошкодженнями. Обробку

морфометричних даних проводили за допомогою спеціалізованої комп'ютерної програми *Image ProPremier 9.0 (USA)*.

Вміст глутатіону відновленого визначали за методикою *E. Beutler et al.* (1963) у модифікації В. М. Гришка та Д. В. Сищикова [2]. В основі методики лежить реакція тіолосульфідного обміну, під час якої вивільнюється аніон 2-нітро-5-тіобензоату.

**Результати досліджень.** Результати пророщування дослідних зразків пажитниці багаторічної після дії на насіннєвий матеріал підвищеної температури дозволили виявити сортову специфічність у чутливості до впливу високотемпературного стресу.

У ході досліджень нами було виділено три групи сортів за показниками термотолерантності (табл. 1). Максимальна жаростійкість була притаманна сортам Святошинський, Литвинівський-1 та Андріана-80, середня – для сорту Лета, слабка – сорту Оріон.

### 1. Жаростійкість сортів рослин *Lolium perenne L.* вітчизняної селекції

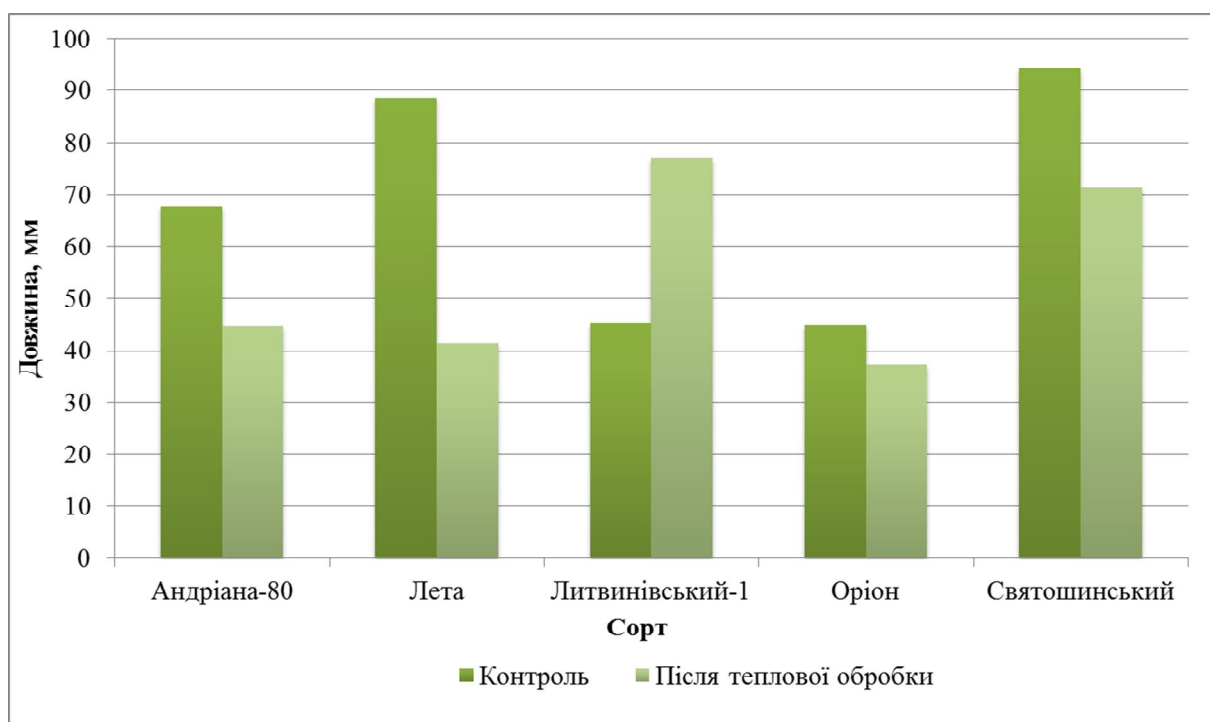
№ з/п	Назва сорту	Енергія проростання (5 доба), %			Схожість (10 доба), %		
		К	К <sub>пр</sub>	К <sub>сх</sub>	К	К <sub>пр</sub>	К <sub>сх</sub>
1	Андріана-80	92,4±3,68	38,7±1,71	41,9	92,4±4,51	76,1±3,57	82,4
2	Лета	90,7±4,05	52,4±2,57	57,8	94,1±4,31	67,6±3,21	71,8
3	Литвинівський-1	80,4±2,80	46,6±2,07	58,0	92,7±4,32	85,2±4,25	91,9
4	Оріон	55,9±2,75	11,2±0,55	20,0	87,9±3,92	43,1±2,02	49,0
5	Святошинський	94,3±4,69	63,4±2,52	67,2	94,7±4,51	88,4±4,3	93,3

*Примітка:* К – контроль, не прогріте насіння; К<sub>пр</sub> – схожість після прогрівання за температури +56 °С; К<sub>сх</sub> – співвідношення схожості прогрітого до не прогрітого насіння.

Морфометричні показники довжини коренів показали, що досліджувані нами сорти рослин *L. perenne L.* не однаково реагують на тепловий шок. Зафіксовано, що на 5 добу, майже всі дослідні рослини сформували кореневу систему з одним корінцем, деякі рослини сорту Литвинівський-1 – 2. Також встановлено, що між контрольною і дослідною групами рослин існує

достовірна різниця за показниками довжини коренів. Наприклад, у сорту Святошинський показники в контролі коливались у межах 3,0–4,5 см, а в дослідних рослинах після теплового шоку – 0,3–3,6 см; сорту Оріон – 0,9–3,6 см та 0,1–1,1 см відповідно.

З'ясовано, що у рослин сорту Литвинівський-1, сформованих за дії на насіння високої температури (+56 °С), на 10 добу загальна довжина коренів була на 41 % більшою, ніж у контрольних рослин, що може свідчити про високу термотолерантність цього сорту (рис. 2). Максимальні зміни довжини коренів під впливом високої температури на насінневий матеріал притаманні сорту Лета (порівняно з контролем менше на 53 %) (рис. 2). Найдовша коренева система була сформована у сорту Святошинський (8,6–12,9 см у контролі та 0,1–10,0 см після теплової обробки).



**Рис. 1. Загальна довжина кореневої системи сортів рослин *Lolium perenne* L. на 10 добу**

На 10 день спостереження рослини всіх досліджуваних сортів сформували кореневу систему з двома–трьома корінцями, однак сорти Литвинівський-1 та Андріана-80 – з чотирма, що на нашу думку, потенційно може сприяти формуванню міцної та пружної дернини.

За умов впливу високої температури на насінневий матеріал у проростків різних сортів *L. perenne* L. змінювались показники швидкості формування листків. За довжиною листкової пластинки дослідні сорти можна розподілити наступним чином Оріон > Лета > Андріана-80 > Литвинівський-1 > Святошинський (табл. 2).

## 2. Загальна довжина листкової пластинки сортів рослин

### *Lolium perenne* L., мм

Сорт	5 день		10 день	
	Контроль	Прогрівання	Контроль	Прогрівання
Андріана-80	13,3±0,65	1,32±0,06	74,3±3,72	44,64±2,23
Лета	11,5±0,54	0,3±0,02	77,3±3,87	31,02±1,55
Литвинівський-1	13,7±0,69	0,65±0,03	55,82±2,12	52,2±2,30
Оріон	3,68±0,18	0,24±0,01	61,5±3,08	19,74±0,81
Святошинський	15,5±0,78	2,44±0,12	102,3±5,12	59,42±2,85

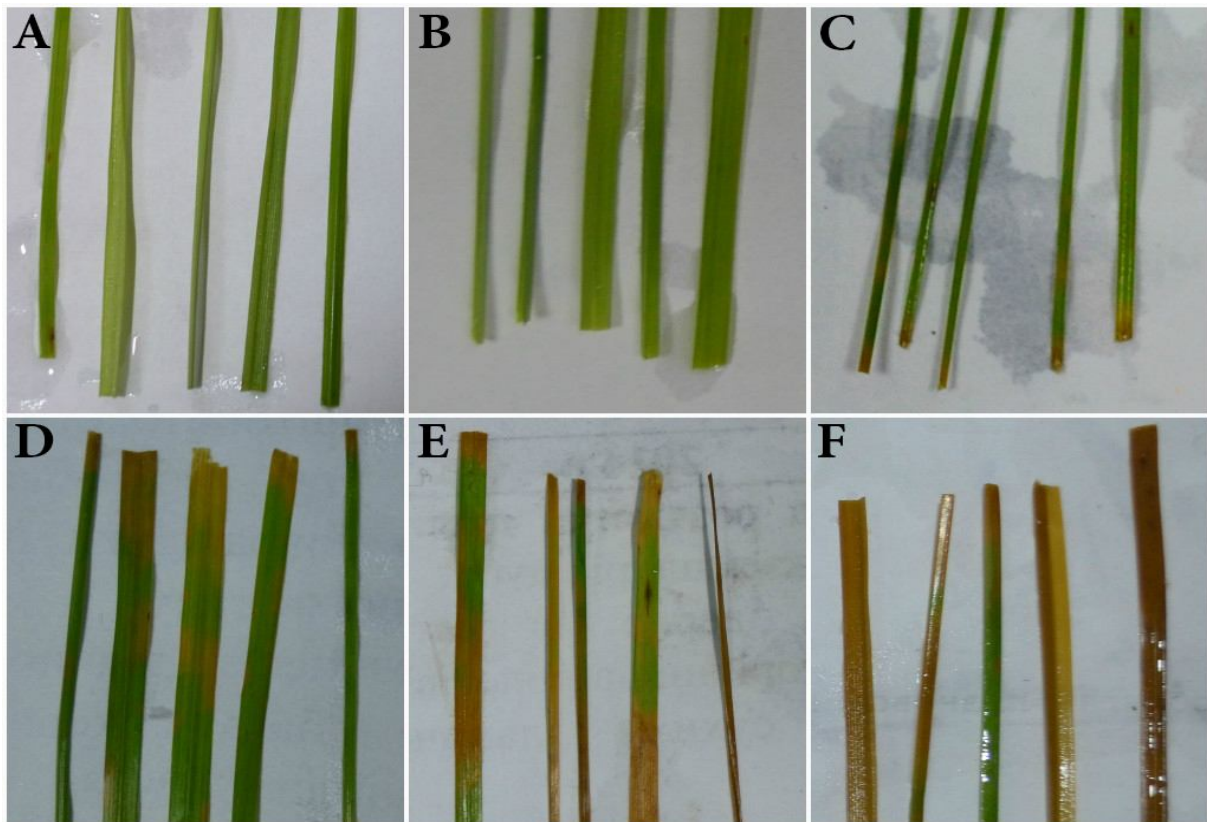
Встановлено, що листки рослин всіх досліджуваних сортів пажитниці багаторічної здатні витримувати занурення в діапазоні температур 40–50 °С протягом 20 хв. без суттєвих уражень (табл. 3). Перші ознаки значних уражень листкової пластинки рослин сортів Святошинський були помітні за температури 60 °С та у відсотковому співвідношенні становили – 55,9 %, що рівноцінно 2 балам. Ураження листкових пластинок сортів Андріана-80, Лета, Литвинівський-1 та Оріон за температури 60 °С було дещо нижчим і не перевищувало 50 %, проте за обраною нами шкалою оцінювалось також у 2 бали.

## 3. Порівняльне оцінювання ступеня жаростійкості листків сортів рослин пажитниці багаторічної вітчизняної селекції

Сорт	Ступінь uszkodження листків високою температурою, °С					
	40	50	60	70	80	90
Андріана-80	+	+	+	+	++	++
Лета	-	+	+	+	++	+++
Литвинівський-1	+	+	+	++	++	+++
Оріон	+	+	+	+	++	+++
Святошинський	+	+	+	++	++	+++

На відміну від деревних рослин, де ураження листкових пластинок бере початок із прожилок листків [5], нами зафіксовано, що ураження листків

рослин *нажитниці багаторічної* в першу чергу відбувається в місцях механічного та біологічного пошкодження (рис. 2).



**Рис. 2.** Зміна забарвлення листкової пластинки *Lolium perenne* L. за дії різних високих температур на прикладі сорту Литвинівський-1: **A** – 40 °С; **B** – 50 °С; **C** – 60 °С; **D** – 70 °С; **E** – 80 °С; **F** – 90 °С

Встановлено, що високими показниками стійкості до високотемпературного стресу вирізняється сорт Андріана-80, пошкодження листкових пластинок якого за температурного діапазону 40–80 °С не перевищують 50 % (табл. 4), що ймовірно, пов'язано зі значною стабільністю мембран хлоропластів, яка забезпечується високим вмістом відновленого глутатіону та активністю антиоксидантних ферментів [7].

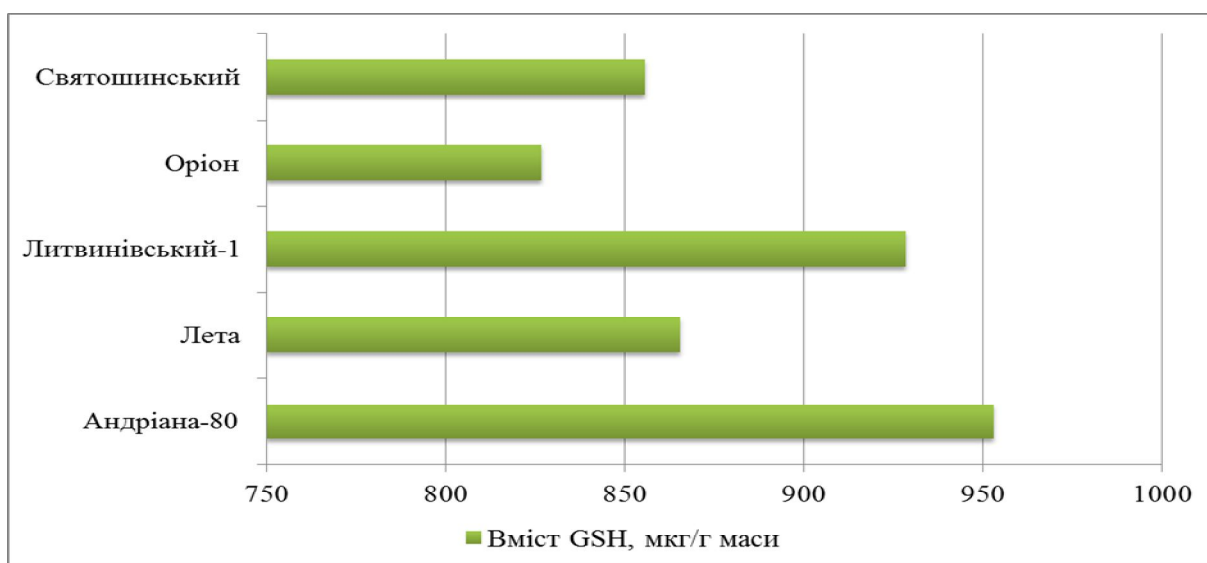
Встановлено пероксидазним способом прогнозування жаростійкості рослин [6], що найбільш жаростійкі сорти *нажитниці багаторічної* – Лета та Андріана-80 ( $A_{50}/A_{\text{опт}} = 2,36$  та  $2,03$ ); сорт Литвинівський-1 – середньої

жаростійкості ( $A_{50} / A_{opt} = 1,45$ ); найменш жаростійкий– Оріон ( $A_{50}/A_{opt} = 1,22$ ), що підтверджує достовірність отриманих результатів.

#### 4. Ступінь ушкодження листків високою температурою, %

Сорт	Ушкодження листків за дії високих температур, °С					
	40	50	60	70	80	90
Андріана-80	2,65	18,0	40,2	40,4	48,5	82,6
Лета	0,4	9,4	30,6	39,6	58,1	83,2
Литвинівський-1	7,1	10,4	36,7	53,6	65,9	87,8
Оріон	1,0	6,68	37,4	44,9	69,0	91,4
Святошинський	1,5	16,3	55,9	61,3	76,2	89,7

За сумарним вмістом відновленого глутатіону у листках і коренях (рис. 3) досліджені рослини можна поділити на три групи: з максимальним вмістом (Андріана-80, Литвинівський-1), середнім вмістом (Лета, Святошинський) та мінімальним вмістом (Оріон).



**Рис. 3.** Сумарні показники вмісту GSH (мкг/г сирої маси) у листках та коренях сортів рослин *L. perenne L.*

#### Висновки

Відомо, що нормальний фолдінг білка за умов температурного та оксидантного стресу в клітинах рослин забезпечують шапірони, які кодуються специфічним сімейством генів Hsp (*Heat shock proteins*) [17]. Високі температури негативно впливають на конформацію більшості мембранних



білків і створюють передумови для їх аномальної агрегації. Шапірони виконують функцію протекторів і нормалізують метаболізм клітин за стресових умов. У зв'язку з тим, що хлоропласти являють собою динамічні органели, які здатні виробляти близько 120 білків власного пластоми [17], шапірони відіграють важливу роль у стабілізації функціонального стану пластид та підтримують цілісність їхніх структур. Саме збереження селективності мембран забезпечує ефективний захист ламел від деструктивної дії хлористоводневої кислоти, яка перетворює молекули хлорофілу на феофітин, що обумовлює побуріння листкової пластинки. Окрім того, структурну цілісність мембран у клітині забезпечують антиоксиданти. У рослинному організмі одним із найефективніших елементів редокс-системи є трипептид (GSH), який нейтралізує вільні радикали, що утворюються в клітинах за стресових умов та викликають перекисне окиснення ліпідів. У пластидах вміст глутатіону в чотири рази більший за вакуолі [19], тому його роль у захисті фотосинтетичної системи рослини вкрай важлива.

Таким чином, вміст глутатіону і швидкість феофітинізації хлорофілу в листках фізіологічно пов'язані, що у комплексному аналізі дає змогу надійніше оцінювати потенційну жаростійкість рослин.

На підставі отриманих нами даних встановлено, що високою термотолерантністю вирізняються сорти Литвинівський-1 і Андріана-80.

### **Список літератури**

1. Межгосударственный стандарт : сб. ГОСТов. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести : ГОСТ 12038-84. – [Действующий от 1986-01-07].– М. : ИПК Изд-во стандартов, 2004.

2. Гришко В. Н. К методике определения содержания тиоловых групп (восстановленной формы глутатиона) в растениях /В. Н. Гришко, Д. В. Сыщиков // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. – 2002. – Т. 1, № 10. – С. 190–193.

3. Зеленчук Т. К. Еколого-біологічні властивості насіння лучних трав / Т. К. Зеленчук, С. О. Гелемей. – Львів : Вища шк., 1983. – 176 с.
4. Кириленко В. В. Результати комплексної діагностики посухо- та жаростійкості пшениці м'якої озимої / В. В. Кириленко, О. В. Гуменюк, О. Л. Дергачов [та ін.] // Науково-технічний бюлетень Миронівського Інституту пшениці ім. В. М. Ремесла НААН. – 2012. – №11–12. – С. 156–173.
5. Колесніченко О. В. Біолого-екологічні системи стійкості та адаптації рослин *Castanea sativa* Mill. : [монографія] / О. В. Колесніченко, І. П. Григорюк, С. М. Григорюк. – К. : ТОВ ЦП «Компринт», 2012. – 335 с.
6. Кучеренко В. Прогнозування жаростійкості сортів райграсу (*Lolium perenne* L.) за показниками активності пероксидази / В. Кучеренко, О. Біда // Вісник КНУ ім. Т. Шевченка. – 2006. – №10. – С. 36–38.
7. Лещенко О. Ю. Роль глутатіон-залежної системи в адаптації сортів рослин *Lolium perenne* L. вітчизняної селекції / О. Ю. Лещенко // Науковий вісник НУБіП України. Серія «Біологія, біотехнологія, екологія» – К. : ВЦ НУБіП України, 2014. – Вип. 204. – С. 30–36.
8. Мацков Ф. Ф. Распознавание живых, мертвых и поврежденных хлорофиллоносных тканей растений по реакции образования феофетина при оценке устойчивости к экстремальным воздействиям / Ф. Ф. Мацков // Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды. – Л. : Колос, 1976. – С. 54–60.
9. Попцов А. В. Значение температурного фактора в прорастании семян / А. В. Попцов // Общая биология. – 1961. – Т. 22, № 6. – С. 425–435.
10. Рубин Б. А. Курс физиологии растений : [учебн. для студ. биол. специальностей университетов] / Б. А. Рубин. – М. : Высш. шк., 1971. – 672 с.
11. Словник найуживаніших термінів з екології, біотехнології і біоенергетики / [авт.-упор. М. Д. Мельничук та ін.]. – К. : ВЦ НУБіП України, 2009. – 294 с.
12. Струве В. П. Некоторые опыты по проращиванию семян луговых трав / В. П. Струве // Зап. по семеноведению. – 1929. – Т. 6, № 3. – С. 50–53.

13. Физиология растений : учеб. для студ. вузов / [Алехин Н. Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В. Ф. и др.]; под ред. И. П. Ермакова. – М. : «Академия», 2005. – 640 с.

14. Физиология растений. Версия 1.0 [Электронный ресурс] : метод. вказівки по лаб. роботам / В. М. Гольд, Н. А. Гаевский, Т. И. Голованова и др. – Красноярск : ИПК СФУ, 2008. – (Физиология растений : УМКД № 165-2007 / рук. творч. коллектива В. М. Гольд). – 1 электрон. опт. диск (DVD). – С. 59.

15. Филимонов М. А. Семена кормовых растений и их биологические свойства : [монография] / Филимонов М. А. – М. : Сельхозизд, 1961. – 264 с.

16. Шахбазов В. Г. Методика для определения жароустойчивости. Комплексная методика ранней диагностики засухо- и жароустойчивости мягкой яровой пшеницы / В. Г. Шахбазов. – Новосибирск, 1981. – 25 с.

17. Batra G., Chauhan V. S., Singh A., Sarkar N. K., Grover A. Complexity of rice Hsp100 gene family: lessons from rice genome sequence data// J. Bio sci. – 2007 – №32 (3). – pp. 611–619.

18. Hasanuzzaman M. Physiological, Biochemical, and Molecular Mechanisms of Heat Stress Tolerance in Plants / Mirza Hasanuzzaman, Kamrun Nahar, Md. Mahabub Alam et al. // International Journal of Molecular Science. –2013. – Vol. 14. – P. 9643–9684.

19. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Climate change 2007– The physical science basis. In Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change; Cambridge University Press: Cambridge, UK, 2007.

20. Queval G., Jaillard D., Zechmann B., Noctor G. Increased intracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> availability preferentially drives glutathione accumulation in vacuoles and chloroplasts // Plant cell environ. – 2011, Jan – № 34(1). – pp.21-32.

21. Wahid, A., Close, T.J., 2007. Expression of dehydrins under heat stress and their relationship with water relations of sugarcane leaves. Biol. Plant. 51, 104–109.

22. Xu, S., Li, J., Zhang, X., Wei, H., Cui, L., 2006. Effects of heat acclimation pretreatment on changes of membrane lipid peroxidation, antioxidant metabolites,

and ultrastructure of chloroplasts in two cool-season turfgrass species under heat stress. *Environ. Exp. Bot.* 56, 274–285.

*Представлены результаты исследований комплексной диагностики жаростойкости растений сортов райграса многолетнего (*Lolium perenne* L.) украинской селекции под действием теплового шока. Показана зависимость между содержанием глутатиона (GSH) в листьях и корнях и термотолерантностью растений. Экспериментально доказано наличие сортовой специфичности растений в ответ на термотолерантность. Выделены сорта, которые являются перспективными для озеленения населенных мест в условиях высокотемпературного стресса.*

**Ключевые слова:** *высокотемпературный стресс, райграс многолетний, тепловой шок, термотолерантность.*

*Presented results of the research complex diagnostics heat resistance of plant varieties perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) of Ukrainian breeding under heat shock. Shown correlation between contents of glutathione (GSH) in leaves and roots and thermo-tolerance of plants. Established plant varietal specificity by the level of thermo-tolerance which proved in experimental way. Highlight varieties that are promising for landscaping greenery in conditions of high stress.*

**Key words:** *high temperature stress, perennial ryegrass, thermal shock, thermo-tolerance.*