

МЕХАНІЗМИ МОРОЗОСТІЙКОСТІ РОСЛИН

О. К. Олімпієва, студентка, elenaolimp0211@gmail.com

Науковий керівник – доцент Галушко І. А.

Миколаївський національний аграрний університет

У статті розглянуто основні компоненти механізму морозостійкості рослин та їх вплив на формування стійкості рослин до впливу низькотемпературного стресу. Було розглянуто і узагальнено результати досліджень різних науковців, які працювали над питанням ролі фітогормонів, вуглеводів, фенольних сполук, білків різної природи і функцій у стабілізації нативної структури мембран і біополімерів в умовах адаптації до морозів.

Ключові слова: морозостійкість, рослини, загартовування, адаптація

Постановка проблеми. Одним з найбільш важливих абіотичних стресів, що призводить до пошкодження рослин і суттєвих втрат врожаю різноманітних сільськогосподарських культур є низькі негативні температури. Враховуючи те, що територія України перебуває у USDA 5 і USDA 6 кліматичних зонах (за системою USDA, розробленою Міністерством сільського господарства США) [1], створення і виведення морозостійких сортів культурних рослин, використовуваних для виробництва і створення запасів харчової продукції, мають велике наукове і господарське значення. На сьогодні актуальним залишається питання генетичної детермінації стійкості окремих видів рослин до впливу низьких температур, ролі та власне механізмів адаптації рослин до морозів.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Дослідження, проведені рядом науковців, свідчать, про складність перебігу адаптації рослин до низьких температур.

На сьогодні визначено роль води у загартовуванні рослин, виявлені структурно–функціональні зміни клітин рослин, у тому числі перебудови плазматичних мембран, охарактеризовано роль поліамінів та фітогормонів у процесі набуття рослинами морозостійкості [2]. Зрозуміло, що крім перелічених біологічно активних речовин, окрема роль відводиться воді, що складає до 90% маси клітини. Встановлено, що у не загартованих рослин при рості позаклітинного льоду за рахунок дегідратації клітини, коли охолодження досягає $-1...-2$ °С, протопласт стискається у об'ємі на 50%, чого виявляється достатньо для загибелі рослинної клітини [3]. Виявлено зв'язок між вмістом катіонів Магнію у РНК в морозостійкістю озимої м'якої пшениці [4], а також вплив пошкодження садових рослин шкідниками і хворобами на здатність витримувати мінусові температури [5]. Дослідження Д.А. Саковича встановили, що стійкість деревних рослин до низьких температур в умовах Північного Причорномор'я залежить передусім від швидкості переходу температурного діапазону через нульову позначку [6].

Найбільший інтерес в останні роки представляють дослідження механізмів морозостійкості зернових, зокрема тритикале [7], рапсу [8], родини

Розових [9, 10,11], Виноградових [12], оскільки їх продуктивність визначає розквіт сільського господарства територіально європейських країн, в тому числі України.

Постановка завдання. Завданням даної роботи є вивчення основних принципів механізмів морозостійкості рослин, охарактеризування детермінант адаптації рослин до низьких температур, а також узагальнення знань наведених у роботах з питань особливостей досягнення рослинами морозостійкості.

Результати досліджень. Термін «морозостійкість» у більшості літературних джерел визначається як індивідуально розвинута здатність рослин протистояти мінусовим температурам. Утворення льоду в клітинах морозостійких рослин відбувається при більш низьких температурах, порівняно з нестійкими видами завдяки ряду фізіолого–біохімічних механізмів і супроводжується меншими ушкодженнями. На думку Ярчука І. І. вчені М. М. Макрушин, В. І. Кефелі та О. Д. Сидоренко надають більш коректне визначення даному поняттю, оскільки вони враховують генетичну обумовленість стійкості [13].

Процеси адаптації рослини до холоду і морозів ґрунтується в першу чергу на зниженні температури навколишнього середовища, гальмуванні інтенсивності метаболічних процесів, а також морфологічних процесах, як підвищення в'язкоеластичних властивостей оболонки клітин, наближення диференційованих клітин до апексу кореня й зміни форми та об'єму клітин

Процес загартовування – складний біологічний комплекс, що включає ряд послідовних фаз[2]. Традиційно за Тумановим, виділяють дві такі фази: у першій фазі загартовування знижується концентрація ауксинів, підвищується проникність мембрани для води, котра частково мігрує у міжклітинники; друга ж фаза характеризується ростом концентрації цукрів і гальмуванням росту рослин [14]. Втім, на базі накопичених фактів і багаторічних дослідів О.І. Колоша передбачає вже шість фаз проходження процесу загартовування, однак принципових суперечностей між теоріями обома немає, скільки теорія Колоші постає у вигляді більш розгорнутої традиційної теорії Туманова [15].

Розвиток морозостійкості у першій фазі загартовування за Тумановим краще протікає за наявності світла, коли клітина здатна накопичити, більше енергетичних речовин за рахунок фотосинтезу, підвищити синтез білків і запаси резервні ліпіди, що локалізуються вздовж клітинних стінок. Світлове опромінення з переважанням коротких хвиль стимулює синтез вільних амінів і білків у клітинах. Рослини, опромінені таким світлом розвиваються повільно і взимку вирізняються високою морозостійкістю. За відсутності світового опромінення у другій фазі загартовування при $-3...-7^{\circ}\text{C}$ морозостійкість знижується на 30% і більше. Загартовані у другій фазі рослини достатньо добре переносять температуру -10°C , за винятком сорту ячменю Ченад–345. В той же час рослини зимостійкого росту озимого ячменю Паладіум 14/14 швидше входять у другу фазу загартовування і добре виживають при температурах порядку $-8...-10^{\circ}\text{C}$ [2]. Для досягнення істинного анабіозу після другої фази потребується швидке охолодження при температурах від -78 до -196°C [16].

У реалізації різних фаз загартовування велику роль відіграє вода. Відомо, що у тканинах рослин вода локалізована у внутрішньоклітинному і позаклітинному просторі, причому внутрішньоклітинна вода може перебувати у трьох станах: вільному, зв'язаному і міцно зв'язаною [17]. Однією з перших змін, що відбувається у початковий період загартовування рослин, є зменшення вільної води в клітинах вузлів кущення. Так, у клітинах не загартованої пшениці містить до 6 г води, а після загартовування – 2 г. Це пов'язано з міграцією води у міжклітинники, а у цитоплазмі накопичуються водорозчинні білки. Зневоднення рослинних клітин є наслідком різниці хімічного потенціалу молекул води, переохолоджених всередині клітин, і молекул локалізованих у кристалах зовнішнього льоду.

У випадку внутрішньоклітинного замерзання клітини не руйнуватимуться, якщо процеси кристалізації і відігріву відбуватимуться дуже швидко ($\approx 1000^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$). Зрозуміло, що досягти подібного ефекту у природних умовах неможливо, тому з метою запобігання незворотніх пошкоджень мембранних і протоплазматичних структур, що морфологічно проявляються у потемнінні ядер клітин та фростплазмолізу, слід знизити ймовірність виникнення внутрішньоклітинних кристалів льоду і значення криоскопічної точки замерзання «внутрішньої» води. Вирішення проблеми згубної внутрішньоклітинної кристалізації полягає у повільному охолодженні зі швидкістю не більше $0,5\text{--}1^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$, котра не веде до формування внутрішньоклітинних кристалів льоду [2].

Характерним є те, що холодостійкі рослини зазвичай мають більш просту морфологію і їх меристемні тканини краще захищені, порівняно з теплолюбними рослинами. Морозостійкі рослини здатні швидко переорієнтувати свій метаболізм у відповідь на вплив низької температури шляхом синтезу специфічних стрес-білків і резервних речовин. Такими речовинами, що гальмують кінетику замерзання, тобто виступають у ролі кріопротекторів, є деякі молекули геміцелюлоз (крилани, арабіноксилани), що виділяються цитоплазмою у клітинну стінку. Механізм їх дії полягає у підтримці судинної води у переходженому стані та у обволіканні кристалів, що зростають, попереджаючи їх ріст [18].

При негативних температурах швидкість всіх біохімічних процесів у клітинах сповільнюється, а деякі з них повністю пригнічуються. Так, при гальмуванні активності каталаз їх функціональний вплив компенсується активізацією альтернативних механізмів, наприклад, підвищеною активністю пероксидаз [19].

В результаті зменшення розміру клітин під впливом холодової дегідратації підвищується в'язкість цитоплазми і мембран [20], знижується їх потенціал та величина рН, ріст рослини сповільнюється у результаті пропорційного збільшення тривалості всіх фаз мітотичного циклу. Останнє явище відбувається внаслідок зміни метаболізму фенольних сполук у бік синтезу лігніну, що підвищує в'язкоеластичні властивості зовнішньої оболонки, тобто підвищує її механічну стійкість [21]. Загальний вміст фенольних сполук у морозостійких рослин дуже низький, за винятком β -

оксибензойної кислоти, що виступає в якості кофактору оксидази індолілоцтової кислоти (ІОК), що ліквідує вплив індоліл-3-оцтової кислоти – сильного ростового фактору групи ауксинів [18].

Перебудови плазматичних мембран в умовах адаптації рослинних організмів до холоду на сьогодні вивчені недостатньо. У нестійких до морозів рослинах пошкодження мембран полягає в тому, що вміст фосфатидилхоліну і фосфатидилетаноламіну знижується, концентрація фосфатидної кислоти збільшується, що пов'язано з активацією внутрішньомембранних фосфоліпаз у період заморожування рослинного об'єкта. Активність таких фосфоліпаз регулюється концентрацією іонів Ca^{2+} Mg^{2+} , причому останній виступає, на противагу першому, в якості інгібітора. В результаті зміни проникності мембран при охолодженні накопичення іонів Ca^{2+} сприяє активації фосфоліпази Д і руйнуванню ліпідних матриць. Окрім того, у незагартованих рослин можуть пошкоджуватися білки цитоскелету [2].

Роль цитоскелету у стійкості рослин до екстремальних факторів середовища висвітлено у роботах вчених Хохлової Л. П. та Макарової М. В. [22] та Абдуллаєвої Т. М. та Магомедової М. А [23]. Зокрема, було проведено імуноцитохімічне дослідження основних фізико-хімічних параметрів (складу, орієнтації, структури і стабільності) тубулінового та актинового цитоскелету і виявлено, що загартовування рослин до холоду і обробка їх абсцизовою кислотою по-різному змінювали структурну організацію тубулінових і актинових компонентів в клітинах зони диференціювання коренів озимої пшениці. У даній роботі також висунуто припущення, що абсцизова кислота, так само як і загартовування, запускає процеси холодової адаптації через деструкцію цитоскелету і зміну надходження іонів Кальцію у цитоплазму [22].

Суттєву роль у підтримці життєздатності рослинних клітин в умовах зниження температури грають поліаміни (путресцин, спермідин, спермін), концентрація яких при процесі охолодження зростає. Зазначені поліаміни формують іонні зв'язки з негативно зарядженими групами різноманітних біополімерів і тим самим стабілізують макромолекулярні структури клітин – мембран, нативних ДНК, рибосом. Відомо, що, наприклад, у листі вівса при дії осмотичного шоку вміст діамінів зростає у 40 разів. Отже, поліаміни виступають у процесі адаптації до знижених температур як своєрідні кріопротектори [2].

Кріопротекторними властивостями володіють також і вуглеводи. Для морозостійкості мають значення ті низькомолекулярні цукри, що містяться у цитоплазмі, а не у вакуолях. Захисна роль цукрів відносно білків обернено пропорційна їх молекулярній масі [24]. У роботі [25] практично досліджено динаміку зміни концентрації цукрів у рослині.

Так у першій фазі відбувається накопичення глюкози, фруктози, занози, мальтози, рамнози і лактози у вузлах кущення при температурах близьких до 0°C.

Під час другої фази в результаті підвищення гідролітичної активності ферментів вуглеводного обміну – мальтози й інвертази – мальтоза розкладається на два види глюкози, рафіноза – на фруктозу і глюкозу. Як

наслідок, моноцукри, зв'язуючи воду, суттєво підвищують в'язкість цитоплазми і знижують таким чином криоскопічну точку замерзання води у вузлах кушення.

При переході з другої фази загартовування до стану спокою у протоплазмі рослинних клітин під впливом вуглеводів відбуваються характерні морфологічні перебудови органел і мембранних структур, першими ознаками котрих на субмікроскопічному рівні є відокремлення протоплазми від оболонки, стиснення у об'ємі протопластів і накопичення у цитоплазмі гранул ліпідної та ліпопротеїдної природи. Таке явище відокремлення протоплазми від плазматичної мембрани іноді використовують як показник при діагностиці рослин на морозостійкість [2].

Зниження температур чинить значний вплив на розчинні і структурні білки рослинних клітин аж до їх денатурації і навіть агрегації. Відомо, що при температурі загартовування у клітинах морозостійких і холодостійких рослин відбуваються суттєві перетворення у ферментативних системах, тому денатурація не може слугувати першопричиною загибелі рослин [19].

Білки, що синтезуються в клітинах рослин під дією низькотемпературного стресу, носять загальну назву «стрес-білки», за аналогією з раніше виявленими у дрозофіл білками теплового шоку [26].

Ступнікова І.В із співробітниками, дослідивши поліморфізм термостабільних білків паростків пшениці, виявили що різний рівень морозостійкості у межах одного виду визначається кількістю специфічних захисних агентів, зокрема високомолекулярних термостабільних поліпептидів [27].

У клітинах рослин, що загартовуються прості білки формують складні комплекси глікопротеїнів, синтез яких визначається інтенсивністю освітлення. В результаті утворення таких комплексів формування кристалів льоду і різке зневоднення клітини гальмується [28]. Тривале світлове опромінення на ряду з накопиченням високим і низькомолекулярних білків підвищує рівень вітамінів, зокрема аскорбінової кислоти, яка відіграє важливу роль у стабілізації біополімерів і підтримці їх конфірмаційного стану.

В процесі загартовування клітин змінюється біосинтез і накопичення глутатіона. Окислений глутатіон з S-S-групами визначає синтетичну направленість дії папаїну – ферменту, що впливає на склад білків цитоплазми, в той час як відновлена форма глутатіону з SH-групами є кофактором гідролатичного розкладу білку. У ході холододового загартовування рослин активність рибонуклеаз пригнічується, що дозволяє клітині накопичувати водорозчинні білки і низькомолекулярні РНК. Активізація синтезу РНК сприяє збільшенню маси протопластів і щільності цитозолу. Такі процеси у незагартованих рослинах не відбуваються.

В цілому зміна експресії геному клітини у відповідь на екстремальний вплив можна представити у вигляді двофазної реакції. У першій фазі сигнали через систему аденілатциклази і вторинних месенджерів передають інформацію до ядра, де взаємодіють з відповідними генами і змінюють характер їх експресії. У другій – внутрішньоклітинні зміни, відповідні до сигналу, що

надійшов, «вмикають» метаболічний ланцюг вираження гену, починаючи від процесу транскрипції [2].

Найкраще дослідженими транскрипційними факторами, що забезпечують розвиток морозостійкості рослин, є CBF–транскрипційні фактори, які регулюють експресію багатьох COR–генів (Cold–Regulated Genes). Продуктами основних груп COR–генів є білки, що забезпечують пристосування рослини до холодного стресу, зокрема: білки–дегідрини, антифризові білки та білки, що попереджають рекристалізацію льоду, антиоксидантні ензими, ферменти шляхів біосинтезу простих цукрів та інших осмопротекторів [26].

Не зважаючи на наявність декількох гіпотез Дж. Левітта та Д. Неймана механізм активації та дії температурозалежних стрес–білків залишається мало вивченим. На сьогодні не виключено, що у ролі індукторів можуть виступати денатуровані білки після дії на них біохімічних реагентів [2].

Висновки і перспективи подальших досліджень. Враховуючи велику кількість наукової інформації з природи механізму морозостійкості, їх розрізненість і різноманіття можна дійти висновку, що процес адаптації рослинних організмів до стресового фактору у вигляді низьких температур наймовірно складний і багатокомпонентний.

Початковим сигналом для входу рослини до стану спокою є зниження температури навколишнього середовища і скорочення фотоперіоду. Ці абіотичні фактори інгібують активні гени, що контролюють ріст, розвиток і фотосинтез, визначають формування метаболічних шляхів адаптації та активують експресію генів контролю за холодостійкістю клітини. Це тягне за собою синтез стрес–білків, адаптогенів і стрес–протекторів (цукрі, поліаміни тощо). Сукупна дія всіх перелічених факторів, включаючи перебудову цитоскелету клітини, зміни функціонування системи ферментів та фітогормонів направлені на зниження криоскопічної точки замерзання води і запобігання формуванню крупно дисперсних кристалів льоду всередині клітини.

З'ясування механізмів зміни експресії геному у відповідь на низькотемпературний вплив й структурних та біохімічних перебудов плазматичних мембран можуть стати фундаментальним відкриттям адаптації рослин до навколишнього середовища. Перспективними дослідженнями для наукового і економічного розвитку складають також виявлення видових та сортових особливостей механізмів морозостійкості стратегічно важливих садових, деревних і сільськогосподарських рослин.

Список використаних джерел

1. USDA Plant Hardiness Zone Map [Електронний ресурс] – Електрон. текст. дані. – Режим доступу: <https://planthardiness.ars.usda.gov/> – Назва з екрану.
2. Белоус А. М., Грищенко В. И. Криобиология. К.: Наукова думка, 2004. 432 с.
3. Калацевич Н. Н., Мурашев С. В. Влияние состояния воды на физико–химические свойства растительной продукции и ее потери при холодильном хранении *Научный журнал ИМТО*. Серия Процессы и аппараты пищевых производств. 2013. №1. С. 18.

4. Взаимосвязь морозостойкости озимой мягкой пшеницы с содержанием катионов магния в РНК / [В. К. Плотников, А. М. Насонов, Е. Е. Иваненко и др.]. *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2008. №2. С. 89–92.
5. Головин С. Е. Влияние повреждения садовых растений вредителями и болезнями на их зимостойкость. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2016. Т. 6. С. 196–198.
6. Сакович Д.А Морозостойкость некоторых декоративных кустарников в условиях северного Причерноморья. *Плодоводство, семеноводство, интродукция древесных растений*. 2010. № 13. С. 134–136.
7. Влияние наличия нижнего узла кущения на зимостойкость и урожайность тритикале озимой / [В. В.Ворончихин, И. Н. Ворончихина, В. С. Рубец, В. В. Пыльнев]. *Кормопроизводство*. 2019. №9. С. 31–36.
8. Возможности повышения эффективности закаливания и зимостойкости масличного рапса / [Величка Р., Римкявичене М., Новицкене Л., Анисимовене Н. и др.]. *Физиология растений*. 2005. №4. С. 532–540.
9. Можар Н. В., Иванюта А. Г. Зимостойкость сортов груши. *Садоводство и виноградарство*. 2007. №3. С. 5–7.
10. Хаустович И.П., Потапов В.А. Зимостойкость и стресс у яблони. *Агро XXI*. 2007. №10–12. С.43–44.
11. Выявление источников зимостойкости, устойчивости к коккомикозу, крупноплодности черешни / [И. Г.Полубяtko, А. А. Таранов, З. А. Козловская, Ю. Г. Кондратенко]. *Садоводство и виноградарство*. 2017. №71. С. 93–101.
12. Губин Е. Н. Влияние родительских пар и типов скрещивания на изменчивость и наследование признака зимостойкости. *Виноделие и виноградарство*. 2010. № 1. С. 44–45.
13. Ярчук І. І. Щодо визначення терміну "морозостійкість рослин". *Таврійський науковий вісник*. 2012. № 79. С.162 – 165.
14. Туманов И. И. Физиология закаливания и морозостойкости растений. М.: Наука, 1979. 350 с.
15. Колоша О.И. Криофитофизиология: проблемы и перспективы развития. *Физиология и биохимия культурных растений*. № 6. С. 537–546.
16. Лозина – Лозинский Л. К. Общие вопросы криобиологии. *Криобиология*. 2005. №1. С. 13–19.
17. Кузнецов В. В., Дмитриева Г. А. Физиология растений. М: Высшая школа, 2005. 736 с.
18. Федулов Ю. П., Доценко К. А. Устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды: учебное пособие. Краснодар: КубГАУ, 2015. 64 с.
19. Кошкин Е. И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. М: Дрофа, 2010. 858 с.
20. Четверикова Е. П. Дегидратация при криосохранении растительных объектов и при созревании семян. *Биофизика*. 2008. Т. 53. №4. С. 666–671.

21. Кучма В. М. Визрівання деревини – один із показників морозостійкості інтродукованих рослин. *Питання біоіндикація та екології*. 2012. №17–2. С. 53–59.
22. Хохлова Л. П., Макарова М.В. Реорганизация цитоскелета при действии на растения низких температур. *Ученые записки Казанского государственного университета*. 2006. Т.148, кн. 3. С. 65 – 88.
23. Абдуллаева Т. М., Магомедова М. А. Структурно–функциональные особенности цитоскелета высших растений и его реорганизация при закаливании растений к холоду. *Известия Дагестанского государственного педагогического университета. Естественные и точные науки*. 2009. №1(6). С. 34 –38.
24. Скляр В. Г. Екологічна фізіологія рослин / В. Г. Скляр, Ю. А. Злобін. – Суми: Університетська книга, 2015. – 271 с.
25. Майор П.С., Козіна Г.Я., Сливка Л.В. Вміст розчинних цукрів у рослинах озимої пшениці протягом осінньо–зимового періоду. *Фізіологія і біохімія культурних рослин*. 2010. Т. 42. № 2. С. 174–182.
26. Єфіменко Т. С. , Антонюк М. З. Молекулярні механізми стійкості рослин до низьких температур. *Наукові записки НаУКМА. Біологія та екологія*. 2014. Т.158. С. 3–13.
27. Полиморфизм термостабильных белков в проростках мягкой пшеницы в период низкотемпературной адаптации/ [И. В. Ступникова, Г. Б. Боровский, А. И. Антипина, В. К. Войников]. *Физиология растений*. 2011. № 6. С. 923–929
28. Шраго М.И. Биологические антифризы и криопротекторы. *Криобиология и криомедицина*. К.: Наукова думка. Вып. №3. С. 81–89.

O. Olimpiyeva. MECHANISMS OF FROST RESISTANCE OF PLANTS

The main components of the mechanism of frost resistance of plants and their influence on the formation of plant resistance to low temperature stress are considered in the article. The results of research of various scientists who worked on the role of phytohormones, carbohydrates, phenolic compounds, proteins of different nature and functions in stabilizing the native structure of membranes and biopolymers in terms of adaptation to frost were considered and summarized.

Key words: frost resistance, plants, hardening, adaptation