

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

КОВАЛЕНКО МАРІЯ СЕРГІЇВНА

УДК 581.1:633.11:58.032.3+631.8

СТРЕСТОЛЕРАНТНІСТЬ ДО ПОСУХИ РОСЛИН РОДУ *TRITICUM* L.
ЗА ПАРАМЕТРАМИ БІОХІМІЧНОГО ФЕНОТИПУВАННЯ

03.00.12 – фізіологія рослин

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2019

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано на кафедрі біології рослин Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України

Науковий керівник доктор біологічних наук, професор
Мусієнко Микола Миколайович,
Київський національний університет
імені Тараса Шевченка,
професор кафедри біології рослин
ННЦ «Інститут біології та медицини»

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Косаківська Ірина Василівна,
Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України,
завідувач відділу фітогормонології

доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник
Прядкіна Галина Олексіївна,
Інститут фізіології рослин та генетики НАН України,
старший науковий співробітник
відділу фізіології та екології фотосинтезу

Захист відбудеться «26» червня 2019 р. о 12⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.14 Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, проспект Академіка Глушкова 2, ННЦ «Інститут біології та медицини», ауд. 434

Поштова адреса: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, спеціалізована вчена рада Д 26.001.14

З дисертацією можна ознайомитись у Науковій бібліотеці ім. М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, вул. Володимирська, 58

Автореферат розісланий “24” травня 2019 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради

В.В. Джаган

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Серед викликів, що постають перед людством в контексті глобальних змін клімату та демографічних проблем, дослідження сформованих в процесі еволюції механізмів адаптації рослин до зростання за умов посухи є надзвичайно актуальними (Tuteja and Gill, 2014; Pereira, 2016). Впродовж багатьох років увага провідних фітофізіологів зосереджена на проблемі прогнозування та підвищення стрестолерантності рослин до посухи (Проценко и др., 1975; Мусиенко и др., 1985; Таран, 2001; Umezawa et al., 2006; Valliyodan and Nguyen, 2006). Цей потужний стресовий фактор спричиняє серйозні порушення метаболізму рослин, що призводить до зниження вегетативної та генеративної продуктивності (Farooq et al., 2009, 2014; Foyer and Shigeoka, 2011). Адаптація рослин в умовах посухи – це складна та скоординована відповідь за участі сотень генів (Blum, 1996; Ford et al., 2011; Kosová et al., 2016), в той час як продуктивність та врожай визначаються взаємодією у системі «генотип-середовище» та реалізуються в межах фенотипової пластичності (Tardieu, 2012; Parent et al., 2017). Для всебічного дослідження комплексу ознак, пов'язаних з процесами росту та розвитку рослин, а також формуванням резистентності, екологічної пластичності та продуктивності, широкого розповсюдження набуває фенотипування, оскільки прогнозування прояву фенотипових змін є можливим лише за умов дослідження фізіологічних реакцій, які є сполучною ланкою між генотипом та фенотипом (Tardieu and Schurr, 2009; Dhondt et al., 2013; Großkinsky et al., 2015). Підхід, що лежить в основі біохімічного фенотипування, передбачає здійснення інтеграційного дослідження морфологічних або анатомічних перетворень, фізіологічних механізмів на рівні біохімічних процесів і новоутворення низькомолекулярних стрес-протекторних сполук, а також захисних макромолекул (Roessner et al., 2002; Yves et al., 2012). Перспективним напрямком у дослідженні стрес-індукованих змін редокс-гомеостазу є визначення проліферації пероксисом, що відображає ефективність функціонування системи антиоксидантного захисту та дозволяє здійснити оцінку ступеню окиснювального стресу (Smertenko, 2017).

Сучасні технології раціонального природокористування схилиються до практичного застосування новітніх досягнень наноіндустрії та використання нанорозмірних біогенних металів для мобілізації і реалізації біологічного потенціалу рослин шляхом індукції ендогенних захисних механізмів, підвищення стрестолерантності рослин та продуктивності (Nair, 2016; Khan et al., 2017).

З огляду на нестачу наявних даних літератури із дослідження засобів реалізації адаптивного потенціалу сортів пшениці актуальним є проведення фенотипування за біохімічними параметрами з подальшим скринінгом стрестолерантності сортів пшениці, а також з'ясування регуляторної дії наночастинок металів за умов посухи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках бюджетних тем «Збереження біорізноманіття та комплексне дослідження стратегій адаптації фіто-, зоо- та

виробіоти України з використанням біоінформаційних технологій» (№ д/р 0111U004649, 2011-2015 рр.), «З'ясування закономірностей формування та інтеграції механізмів стрестолерантності рослин для прогнозування та управління їх функціонуванням за екстремальних умов» (№ д/р 0116U004779, 2015-2018 рр.), гранту Президента України за конкурсним проектом №Ф75/170-2018 Державного фонду фундаментальних досліджень «Адаптивний потенціал зернових та бобових культур та його корекція нанорозмірними елементами мінерального живлення», спільного українсько-американського науково-дослідного проекту за підтримки Фонду цивільних досліджень та розвитку США (CRDF Global) «Розробка високопродуктивних технологій оцінки АФК-стресу у рослин на основі фенотайпінгу пероксисом» (№ OISE-16-62764-0).

Тема дисертації затверджена Вченою радою ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка (протокол № 10 від 11 квітня 2016 р.)

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – з'ясування фізіолого-біохімічних особливостей стрестолерантності до посухи злакових культур роду *Triticum* L. за характеристиками окисного гомеостазу, вмісту пероксисом та захисних білків.

Відповідно до мети було поставлено наступні завдання:

- розробити модельну систему осмотичного стресу та провести скринінг сортів пшениці на стрестолерантність до посухи;
- дослідити особливості реакції антиоксидантної системи на ранніх етапах розвитку рослин за умов поліетиленгліколь (ПЕГ)-модельованого осмотичного стресу видів *Triticum*, на прикладі пшениці м'якої (*T. aestivum* L.) та пшениці двозернянки (*T. dicoccum* Schrank ex Schübl.);
- з'ясувати роль захисних білків (дегідринів, хітиназ, β -1,3-глюканаз) у формуванні посухотолерантності різних видів *Triticum*;
- оцінити стрестолерантність сучасних сортів пшениці на основі аналізу параметрів окиснювального гомеостазу, вмісту пероксисом за умов посухи;
- з'ясувати особливості регуляції посухостійкості рослин нанорозмірними елементами мінерального живлення в умовах агроценозу.

Об'єкт дослідження: фізіолого-біохімічні процеси формування стрестолерантності рослин до посухи.

Предмет дослідження: системи антиоксидантного захисту, пероксисоми як компартменти АФК, захисні білки (дегідрини, хітинази, β -1,3-глюканази) в оцінці толерантності рослин до посухи.

Методи дослідження: у дослідженнях використані лабораторні методи скринінгу сортів за морфометричними параметрами ростових процесів, як інтегральних показників фізіологічного стану рослин; біохімічного фенотипування з використанням спектрофотометричного вимірювання активності ензимів антиоксидантної системи, вмісту прооксидантів, продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів, вмісту водорозчинного протеїну; спектрофлуориметричного визначення вмісту пероксисом з використанням флуоресцентного зонду N-BODIPY, електрофоретичного аналізу білків в поліакриламідному гелі (визначення активності хітиназ та β -1,3-глюканаз) та

вестерн-блот аналіз (визначення вмісту дегідринів), методи вегетаційного та польового досліду, а також методи математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. Встановлено особливості формування стретолерантності до посухи за параметрами біохімічного фенотипування (станом антиоксидантної системи, специфікою накопичення стрес-індукованих протеїнів дегідринів, активністю хітиназ та β -1,3-глюканаз) генотипів *T. aestivum* та *T. dicoccum* на ранніх етапах розвитку та за вмістом пероксисом у фазу формування генеративних органів. На основі проведеного комплексного фізіолого-біохімічного аналізу з'ясовано тенденції формування осмотичної толерантності досліджуваних видів. Досліджено вплив наночастинок металів на редокс-гомеостаз рослин та можливість їх використання як адаптогенів до дії посухи. Отримані експериментальні дані поглиблюють теоретичні уявлення про стратегію формування стретолерантності рослин на рівні фенотипових проявів адаптивних реакцій генотипів та способів їх корекції з використанням новітніх нанотехнологій.

Практичне значення одержаних результатів. Результати проведених досліджень вказують на різновекторність формування стретолерантності у сортів *T. aestivum* та *T. dicoccum* за дії посухи і можуть слугувати основою оптимізації технології вирощування зернових культур шляхом активації ендогенних механізмів неспецифічної стійкості для екологізації рослинництва за умов глобальних змін клімату. Запропонована модельна система осмотичного стресу є перспективною для ранжування сортів/видів за стретолерантністю до дії широкого спектру абіотичних факторів, що є причиною осмотичного стресу рослин (посуха, засолення, дія важких металів, тощо). Отримані результати свідчать, що визначення стретолерантності рослин за параметрами біохімічного фенотипування дає можливість для розуміння складних взаємозв'язків на різних рівнях організації рослинного організму. Результати досліджень доповнюють фізіологічну основу використання наночастинок металів для підвищення продуктивності зернових культур за несприятливих умов довкілля.

Особистий внесок здобувача. Інформаційний пошук, проведення експерименту та аналіз результатів дослідження виконані дисертантом особисто. Формування ідеї роботи, планування комплексу лабораторних досліджень, узагальнення отриманих результатів проведено за участю наукового керівника д.б.н., проф. Мусієнка М.М., зав. кафедри біології рослин д.б.н., проф. Таран Н.Ю., зав. Науково-дослідної лабораторії «Фізіологічних основ продуктивності рослин» к.б.н., с.н.с. Бацманової Л.М. Дослідження проводились спільно з співробітниками кафедри біології рослин та НДЛ «Фізіологічних основ продуктивності рослин» ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, а також доц. Матушиковою І., Ph.D., та асист. Грегоровою З., Ph.D. (Університет св. Кирила та Мефодія м. Трнава, Словаччина), к.б.н., доц. Смертенком А.П. (Інститут біологічної хімії Університету штату Вашингтон м. Пулман, США), д.б.н. Стасиком О.О. та с.н.с. Соколовською-Сергієнко О.Г. (Інститут фізіології рослин та генетики НАН України).

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на: 11 міжнародній конференції «Plant Functioning Under Environmental Stress» (Краків, Польща, 2018); З'їзді американського товариства біологів рослин «Plant Biology 2018» (Монреаль, Канада, 2018); IV Міжнародній конференції «Онтогенез рослин у природному та трансформованому середовищі. Фізіолого-біохімічні та екологічні аспекти» (Львів, 2017); XIII Міжнародній науковій конференції студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 2017); Міжнародних науково-практичних конференціях «Nanotechnology and nanomaterials» (Львів, 2015, 2016; Чернівці, 2017; Київ, 2018).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 19 наукових праць, з них 7 статей у фахових періодичних наукових виданнях (з яких 5 – у виданнях, що входять до міжнародної наукометричної бази даних SCOPUS, 2 – у фахових виданнях України) та 12 тез доповідей у матеріалах міжнародних наукових конференцій та з'їздів.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів роботи та їх обговорення, аналізу й узагальнення результатів, висновків та списку використаних джерел, що включає 309 джерел, 1 додатку. Матеріали дисертаційної роботи викладені на 164 сторінках (з яких основна частина займає 110 сторінок), ілюстрована 3 таблицями та 24 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Огляд літератури

Узагальнено відомості про фізіологічні та молекулярні механізми, що обумовлюють стретолерантність рослин до посухи. Висвітлено роль антиоксидантних, осморегуляторних систем захисту рослин та стрес-індукованих білків за умов посухи. Проаналізовано сучасний стан методологічних підходів фенотипування у оцінці стретолерантності рослин. Обґрунтовано необхідність дослідження впливу нанорозмірних елементів мінерального живлення на стан рослин за умов посухи.

Матеріали та методи досліджень

У дослідженні використовували пшеницю м'яку (*T. aestivum*) сортів Акведук, Астарт, Дарунок Поділля, Золотоколоса, Краєвид, Магістраль, Мудрість одеська, Наталка, Національна, Одеська 267, Подолянка, Поліська 90, Смуглянка, Столична, Трипільська, Фаворитка, та пшеницю двозернянку (*T. dicoccum*) сорту Голіковська. До експерименту в умовах агроценозу залучено сою (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Аннушка та нут (*Cicer arietinum* L.) сорту Розанна. Попередню оцінку стретолерантності рослин до посухи здійснювали за морфометричними параметрами проростків, пророщених на ПЕГ-вмісних середовищах з різним осмотичним потенціалом (експозиція 72 год.). Короткотривалий осмотичний стрес моделювали шляхом 24-годинної експозиції 7-добових проростків на середовищах з 10% ПЕГ 6000 (-0,15 МПа) (Carl Roth, Німеччина). Пролонгований осмотичний стрес створювали шляхом експозиції проростків на середовищах з 15% ПЕГ (-0,3 МПа) впродовж 7 діб

після проростання. За умов вегетаційного досліду посуху створювали у фазу цвітіння шляхом припинення поливу до зниження рівня вологості ґрунту 30% впродовж 7 діб, після чого відновлювали водопостачання до рівня контролю (60-70% від повної вологоємності ґрунту). Колоїдні розчини наночастинок металів (Ag, Fe, Mn, Cu, Zn, Mo), розроблені кафедрою технології конструкційних матеріалів і матеріалознавства НУБіП України, використовували для передпосівної обробки насіння та/або позакореневої обробки рослин згідно рекомендацій (Лопатько та ін., 2009).

Вміст перекису водню визначали за допомогою методу Sagisaka (1976). Розвиток окиснювальних процесів оцінювали за вмістом тіобарбітурат (ТБК)-активних продуктів (Kumar and Knowles, 1993). Вміст вільного проліну визначали згідно методу Bates та ін. (1973). Вміст фотосинтетичних пігментів визначали згідно Lichtenthaler та Wellburn (1983). Загальний білковий екстракт, отриманий шляхом гомогенізації рослинного матеріалу у 0,05М калій-фосфатному буфері (рН 7,8), використовували для визначення вмісту протеїну за методом Bradford (1976) та активності антиоксидантних ензимів за допомогою спектрофотометра Shimadzu UV-1500 (Японія). Активність супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1) вимірювали згідно Giannopolitis та Ries (1977). Активність каталази (КАТ, КФ 1.11.1.6) визначали за Aebi (1984). Визначення активності аскорбатпероксидази (АПО, КФ 1.11.1.11) здійснювали за методикою Verma та Dubey (2003). Активність гваяколпероксидази (ГПО, КФ 1.11.1.7) вимірювали згідно Dias та Costa (1983).

Вміст пероксисом визначали за допомогою флуоресцентного зонду N-BODIPY (Nitro-4,4-Difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene) згідно Fahy та ін. (2017). Інтенсивність флуоресценції досліджуваних зразків вимірювали за допомогою спектрофлуориметра Synergy Neo B (BioTek Instrument, Inc., США), нормалізували відносно вмісту протеїну та виражали в у.о/1 мг протеїну.

Для визначення активності ізоформ хітиназ (КФ 3.2.1.14) та β -1,3-глюканаз (КФ 3.2.1.39) використовували електрофоретичне розділення білків у 12,5% поліакриламідному гелі (Laemmli, 1970), що містив специфічний субстрат (глікольхітин (Trudel and Asselin, 1989) або ламінарин (Sigma, США), відповідно). Для візуалізації ізоформ хітиназ отримані гелі інкубували в 0,01% розчині Fluorescent Brightener 28 (Sigma, США). Візуалізацію β -1,3-глюканаз здійснювали кип'ятінням гелів у 1М розчині NaOH з 0,1% 2,3,5-трифенілтетразолію хлоридом (Sigma, США) згідно Pan та ін. (1991). Цифрові зображення гелів отримували за допомогою системи гель-документації (Major Science, США).

Вміст дегідринів визначали методом вестерн-блот з використанням специфічних антитіл Anti-Dehydrin rabbit antibody (Agrisera, Швеція). Детекцію дегідринів проводили шляхом інкубації нітроцелюлозної мембрани у розчині NBT/BCIP Stock Solution (Roche Diagnostics, Німеччина) після їх обробки вторинними антитілами Anti-Rabbit IgG-Alkaline Phosphatase antibody (Sigma, США).

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою програм Microsoft Excel та Statistica 8.0. Для порівняння вибірок підраховували середнє арифметичне (M) та стандартну помилку від середнього (SEM). Достовірність

різниці між порівнюваними групами оцінювали за допомогою критерію Дункана. Статистично значущою для всіх показників вважали різницю $p < 0,05$. Оцінку сили взаємозв'язку між окремими показниками здійснювали за коефіцієнтом лінійної кореляції Пірсона (r).

Результати досліджень та їх обговорення

Скринінг сортів пшениці на стретолерантність до посухи в умовах модельної системи осмотичного стресу. Здійснено порівняльний аналіз ростових процесів 9 сортів пшениці м'якої (*T. aestivum*) та пшениці двозернянки (*T. dicocum*) сорту Голіковська за осмотичного стресу (рис. 1).

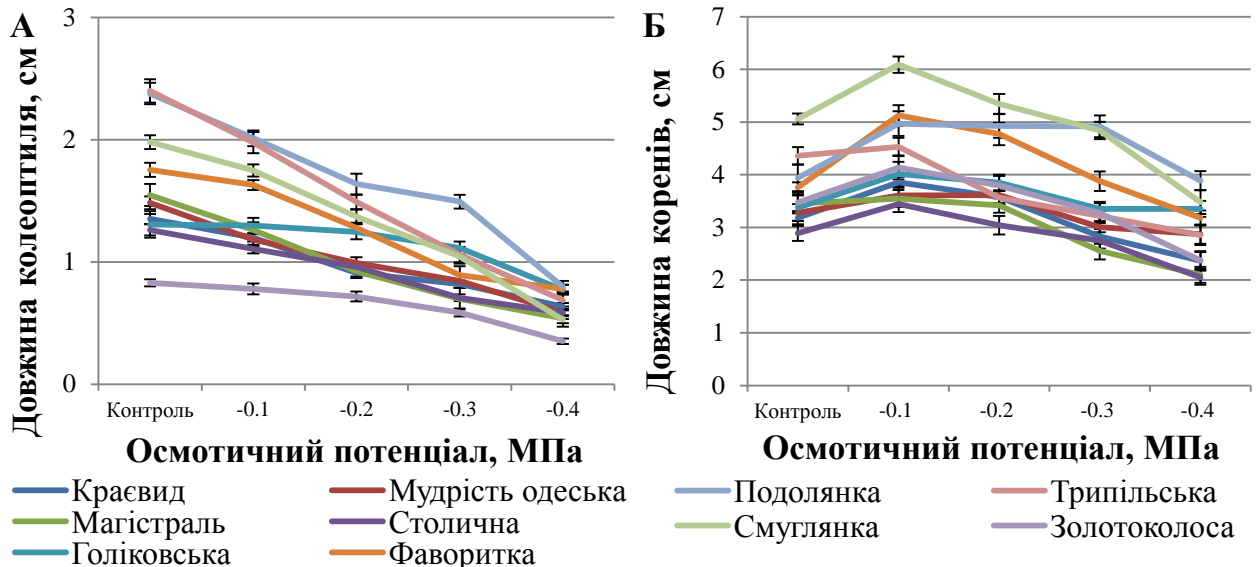


Рис. 1. Довжина колеоптилів (А) та коренів (Б) пшениці м'якої та двозернянки, пророщених на середовищах з різним осмотичним потенціалом. Контролем слугували рослини, пророщені на дистильованій воді. $M \pm SEM$

На основі фенотипування досліджуваних сортів за ростовими реакціями в ПЕГ-модельованій системі осмотичного стресу відібрано середовище з осмотичним потенціалом $-0,3$ МПа, як таке, що викликає в рослинному організмі метаболічні зміни, спрямовані на формування захисних реакцій рослин до дефіциту води, а не деградаційні процеси. Сорти Фаворитка та Трипільська було відібрано як толерантний та чутливий, відповідно, до дії посухи, а пшеницю двозернянку сорту Голіковська виділено як злакову культуру, що характеризується високою толерантністю до посухи.

Стан антиоксидантної системи на ранніх етапах розвитку рослин за умов ПЕГ-модельованого осмотичного стресу. Оцінка фізіолого-біохімічного стану проростків пшениці м'якої та двозернянки, відібраних на попередньому етапі дослідження, свідчить про розвиток окиснювальних процесів у сорту Трипільська, у листках якого спостерігали збільшення ТБК-активних продуктів на 16% (рис. 2А) за умов короткотривалого осмотичного стресу. У сортів Фаворитка та Голіковська змін за цим параметром не виявлено.

Накопичення вільного проліну є частиною загального механізму адаптації рослин до посухи (Проценко и др., 1975), оскільки ця імінокислота не лише перешкоджає надмірній втраті води завдяки високій осмотичній активності, але може виконувати роль шаперону, забезпечуючи підтримку нативної структури

ензимів, в т.ч. антиоксидантних (Колупаев и Ястреб, 2015). За умов помірного осмотичного стресу підвищення вмісту проліну спостерігали у сортів пшениці м'якої Трипільська та Фаворитка на 28 та 33%, відповідно (рис. 2Б). У сорту Трипільська спостерігали також зниження відносного вмісту води на 12%, тоді як у сортів Фаворитка та Голіковська оводненість листків була на рівні контролю (рис. 2В).

Згідно аналізу отриманих результатів, достовірних змін за досліджуваними параметрами у проростків пшениці двозернянки сорту Голіковська за умов короткотривалої експозиції на середовищі з від'ємним осмотичним потенціалом не виявлено. Це може свідчити про залучення механізмів, здатних попереджати розвиток стресу за умов короткотривалого дефіциту води. Оцінка фізіолого-біохімічного стану проростків пшениці м'якої свідчить про здатність сорту Фаворитка витримувати короткотривалий осмотичний стрес, на відміну від сорту Трипільська, у якого спостерігали розвиток окиснювальних процесів та зниження водного статусу.

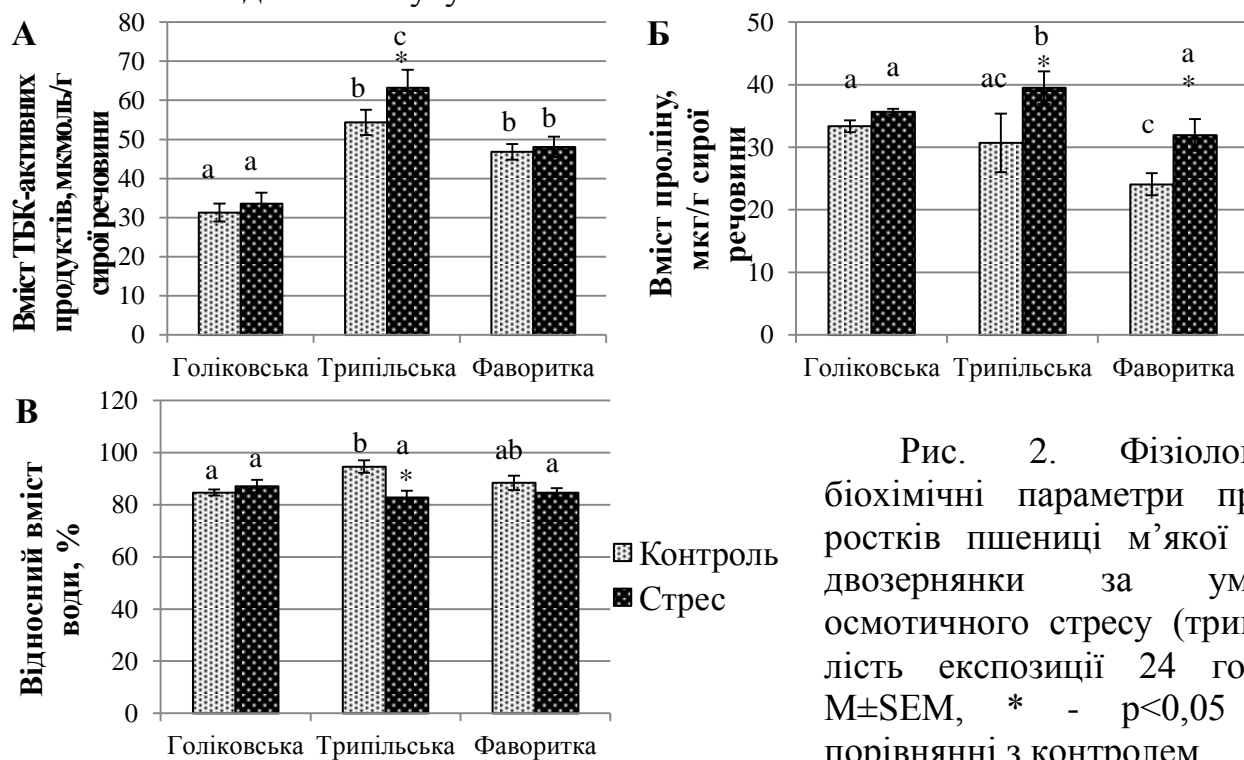


Рис. 2. Фізіолого-біохімічні параметри проростків пшениці м'якої та двозернянки за умов осмотичного стресу (тривалість експозиції 24 год). $M \pm SEM$, * - $p < 0,05$ у порівнянні з контролем

Вплив довготривалого ПЕГ-модельованого осмотичного стресу на параметри окиснювального гомеостазу проростків пшениці м'якої та пшениці двозернянки. До формування фізіологічної відповіді за умов пролонгованого впливу посухи залучаються складні адаптаційні механізми, для активації роботи яких необхідні час та додаткові ресурси.

З огляду на результати попереднього етапу дослідження можна припустити, що проростки пшениці двозернянки здатні витримати інтенсивніші стресові навантаження, проте проростки пшениці м'якої можуть зазнати значних пошкоджень. У зв'язку з цим насіння досліджуваних сортів підлягало передпосівній обробці колоїдним розчином суміші наночастинок металів (Fe, Cu, Mn, Zn), що, ймовірно, могли б бути залучені до індукції адаптаційно-компенсаторних механізмів за умов стресу.

За умов довготривалого осмотичного стресу накопичення ТБК-активних продуктів спостерігали лише у проростках сорту Трипільська (рис. 3). Відсутність змін за даним параметром відносно контрольного варіанту у сортів з підвищеною толерантністю до дії ПЕГ-індукованої посухи може свідчити про відновлення редокс-балансу та встановлення контролю за процесами утворення АФК в клітинах рослин. Передпосівна обробка колоїдним розчином наночастинок біогенних металів спричиняла протекторну дію на проростки пшениці м'якої та двозернянки, пригнічуючи розвиток окиснювальних процесів в коренях за умов тривалого осмотичного стресу порівняно з варіантом без обробки наночастинками.

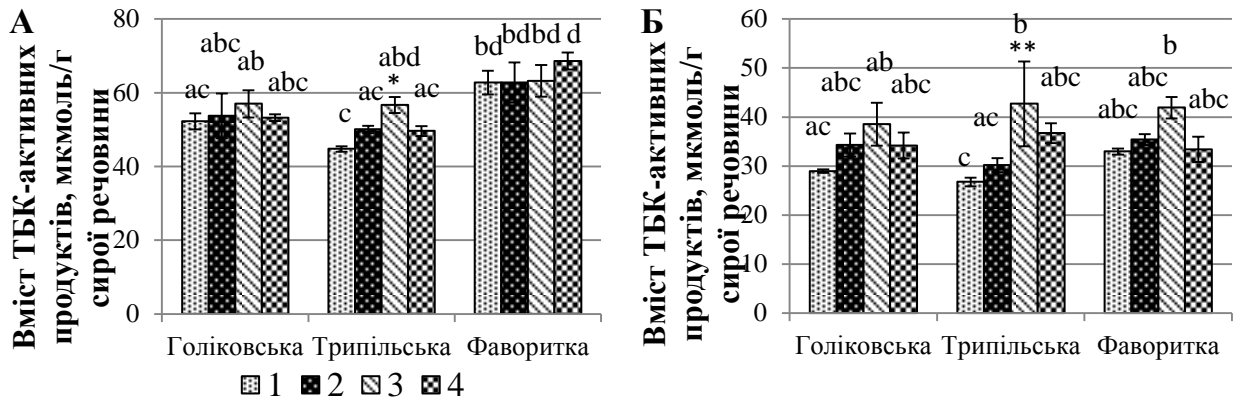


Рис. 3. Вміст ТБК-активних продуктів в листках (А) і коренях (Б) пшениці м'якої та двозернянки: 1 – контроль; 2 – обробка розчином наночастинок металів; 3 – осмотичний стрес; 4 – обробка розчином наночастинок металів з подальшим осмотичним стресом. $M \pm SEM$, * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ у порівнянні з контролем

Забезпечення осмотичної регуляції та підтримки водного балансу клітин за дії стресора певною мірою відбувається за участі вільного проліну. Показано, що вміст проліну у різних органах проростків пшениці м'якої незбалансований, зі значним (10:1) превалюванням у коренях (рис. 4Б). У проростків пшениці двозернянки сорту Голіковська спостерігали менш інтенсивне накопичення проліну в коренях у порівнянні з іншими сортами. Разом з тим, вміст проліну у листках пшениці двозернянки збільшився у 7 разів, на відміну від сортів пшениці м'якої, у яких цей показник був на рівні значень контрольного варіанту (рис. 4А). Отримані результати узгоджуються з дослідженням Marcińska та ін. (2013) та можуть свідчити про більш досконалий механізм захисту пшениці двозернянки за умов посухи. Варто зазначити, що за передпосівної обробки сумішшю нанорозміних частинок металів вміст проліну у проростків пшениці двозернянки за умов осмотичного стресу знижувався, ймовірно, завдяки залученню інших протекторних механізмів, зокрема антиоксидантних.

Дослідження активності основних антиоксидантних ензимів, а саме СОД та КАТ, виявили різновекторність захисних реакцій досліджуваних сортів за умов пролонгованого осмотичного стресу. У пшениці м'якої сорту Фаворитка спостерігали підвищення активності СОД в коренях на 30% за умов тривалого

осмотичного стресу, тоді як у сорту Трипільська знижувалась на 25% (рис. 5). Змін активності СОД у листках досліджуваних сортів не виявлено.

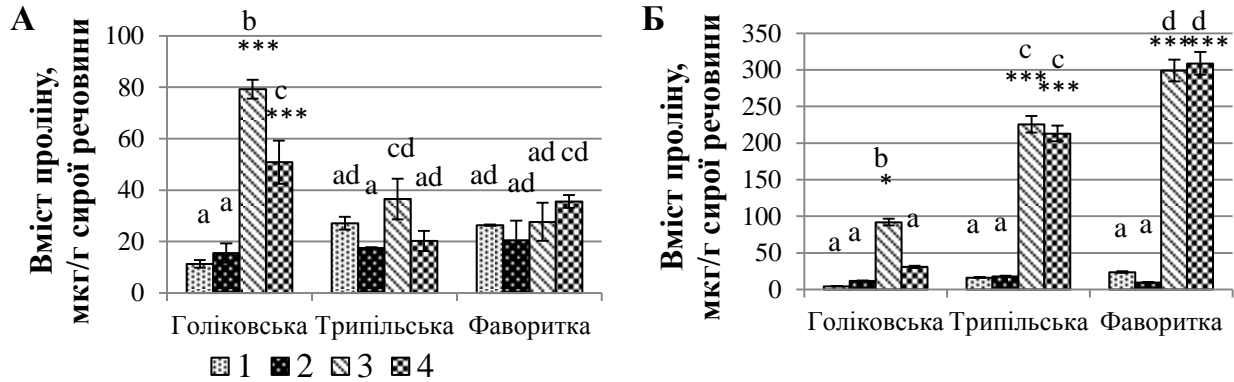


Рис. 4. Вміст вільного проліну в листках (А) і коренях (Б) пшениці м'якої та двозернянки: 1 – контроль; 2 – обробка розчином наночастинок металів; 3 – осмотичний стрес; 4 – обробка розчином наночастинок металів з подальшим осмотичним стресом. $M \pm SEM$, * - $p < 0,05$, *** - $p < 0,001$ у порівнянні з контролем

Сорти пшениці м'якої Трипільська та Фаворитка характеризувались зниженням активності КАТ у коренях на 25 та 38%, відповідно (рис. 6), тоді як у пшениці двозернянки сорту Голіковська цей показник зростав на 35% за осмотичного стресу. Зміни за цим параметром у листках спостерігали лише у сорту Фаворитка, де активність КАТ достовірно знижувалась на 19% за умов вирощування рослин на ПЕГ-вмісному середовищі.

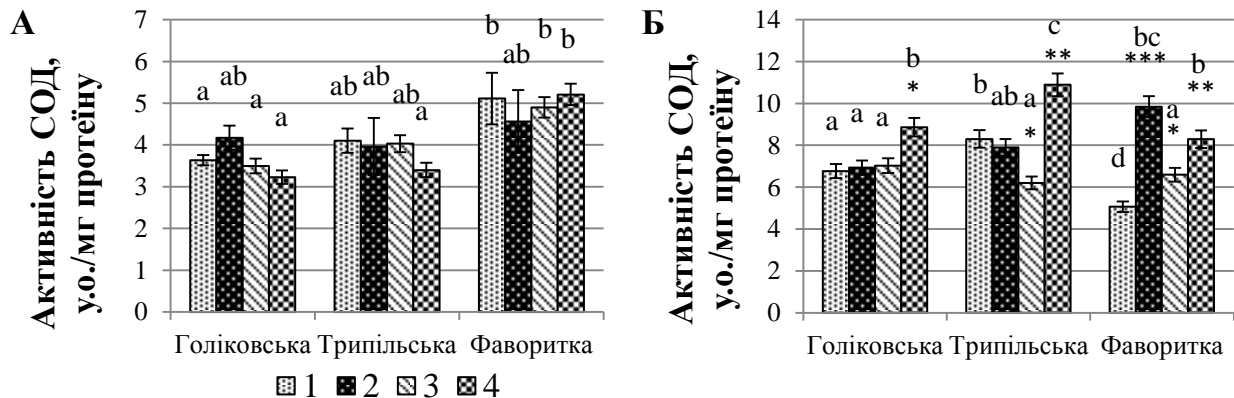


Рис. 5. Активність СОД в листках (А) і коренях (Б) пшениці м'якої та двозернянки: 1 – контроль; 2 – обробка розчином наночастинок металів; 3 – осмотичний стрес; 4 – обробка розчином наночастинок металів з подальшим осмотичним стресом. $M \pm SEM$, * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ у порівнянні з контролем

Обробка колоїдним розчином суміші наночастинок біогенних металів сприяла активації СОД у коренях сорту Фаворитка майже у 2 рази, тоді як у коренях сорту Голіковська спостерігали збільшення активності КАТ на 34% відносно контрольного варіанту. У листках сортів Трипільська та Голіковська спостерігали підвищення активності КАТ на 30 та 16%, відповідно, порівняно з контролем. Дані літератури свідчать (Jha and Pudake, 2016; Nair, 2016), що

обробка наночастинками металів може опосередковувати активацію системи антиоксидантного захисту, сприяючи швидкій адаптації рослин за умов стресу.

Протекторний ефект від обробки наночастинками металів спостерігали у коренях досліджуваних сортів, де на тлі збільшення активності СОД та КАТ відбувалося зниження вмісту ТБК-активних продуктів.

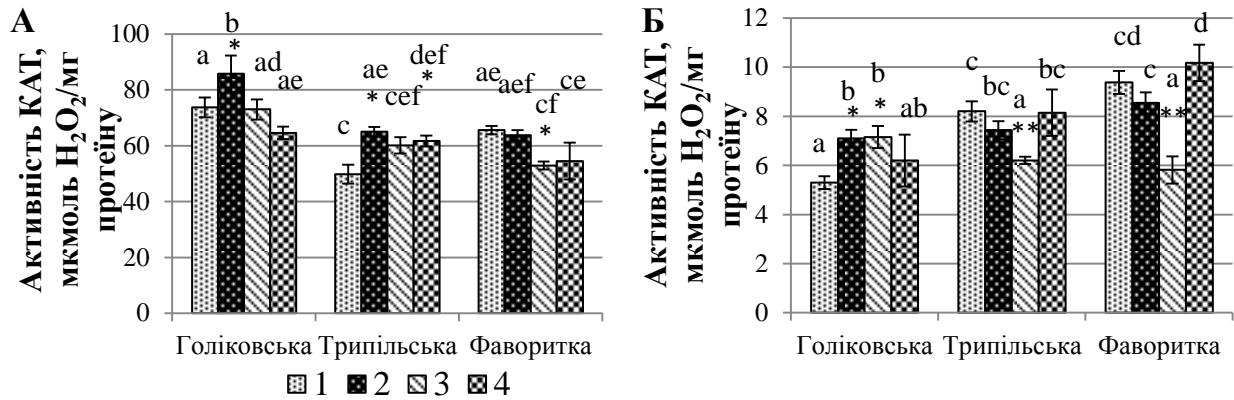


Рис. 6. Активність КАТ в листках (А) і коренях (Б) пшениці м'якої та двозернянки: 1 – контроль; 2 – обробка розчином наночастинок металів; 3 – осмотичний стрес; 4 – обробка розчином наночастинок металів з подальшим осмотичним стресом. $M \pm SEM$, * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ у порівнянні з контролем

Аналіз отриманих результатів показав, що проросткам пшениці двозернянки сорту Голіковська вдалося реалізувати їхній генетично-закладений потенціал толерантності до посухи, про що свідчить відсутність розвитку окиснювальних процесів та стабільність функціонування системи антиоксидантного захисту за умов довготривалого осмотичного стресу.

Роль захисних білків (дегідринів, хітиназ, β -1,3-глюканаз) у формуванні посухотолерантності різних видів роду *Triticum* L. Дослідження участі стрес-індукованих білків, зокрема дегідринів, у формуванні адаптаційних реакцій рослин пшениці двозернянки практично відсутні. Недостатньо вивчено роль хітиназ та β -1,3-глюканаз рослин як компонентів загального механізму захисту рослин за умов посухи, що здебільшого обумовлено їх приналежністю до PR-білків.

Результати нашого дослідження свідчать про наявність 4 ізоформ хітиназ з молекулярною масою близько 34, 41, 62 та 73 кДа у проростків пшениці м'якої та двозернянки (рис. 7). У сортів Трипільська та Фаворитка виявлено також ензим з хітинолітичною активністю молекулярною масою 51 кДа. За умов короткотривалого осмотичного стресу, модельованого ПЕГ 6000, спостерігали підвищення активності хітиназ пшениці м'якої. У проростків сорту Трипільська було виявлено індукцію хітинолітичної активності ензиму з молекулярною масою 34 кДа, в той час, як у сорту Голіковська активність цих хітиназ знижувалась майже на 50% порівняно з контролем. У рослин пшениці двозернянки спостерігали достовірне збільшення активності лише хітиназ з молекулярною масою 73 кДа. Отримані результати узгоджуються з іншими дослідженнями (Raeini-Sarjaz and Chalavi, 2011; Gregorová et al., 2015) та свідчать про участь хітиназ у адаптаційних реакціях рослин за осмотичного стресу, хоча їх роль у цьому процесі залишається дискусійною.

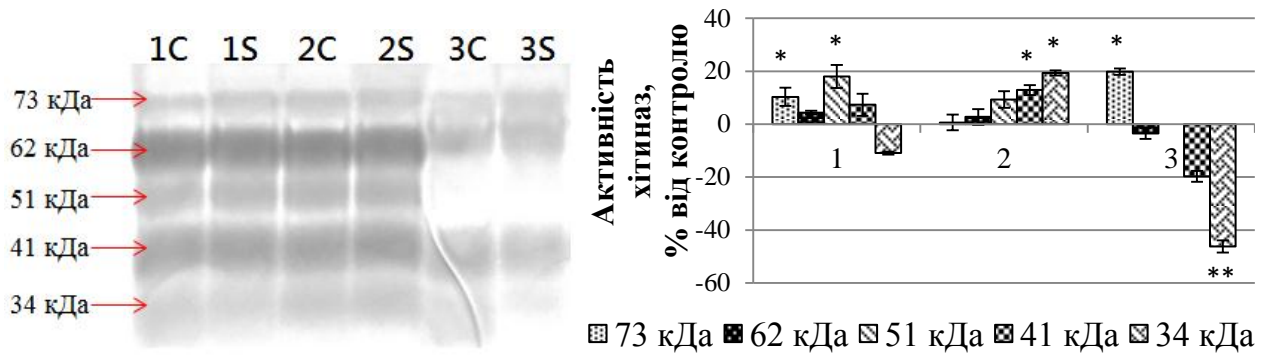


Рис. 7. Активність загальних хітиназ у листках проростків пшениці м'якої та двозернянки за умов осмотичного стресу: **1** – сорт Фаворитка; **2** – сорт Трипільська; **3** – сорт Голіковська; **С** – контроль; **S** – осмотичний стрес. Стрілки вказують на виявлені ізоформи. $M \pm SEM$, * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ у порівнянні з контролем

Завдяки здатності до розщеплення N-ацетилглюкозаміну, хітинази, ймовірно, можуть змінювати співвідношення гнучкості та еластичності клітинної стінки, регулюючи, таким чином, розмір клітини (Maglovski et al., 2017), сприяти підтриманню оводненості клітинної стінки та опосередковувати активацію специфічних ензимів деглікозилювання (Maregi et al., 2018) для підвищення внутрішньоклітинного осмотичного тиску за умов дегідратації.

У пшениці двозернянки сорту Голіковська за умов ПЕГ-модельованого осмотичного стресу спостерігали підвищення активності β -1,3-глюканаз з молекулярною масою 23 кДа у 2 рази (рис. 8). Разом з тим, змін активності β -1,3-глюканаз у обох сортів пшениці м'якої не виявлено. Отримані результати узгоджуються з раніше опублікованим дослідженням (Gregorová et al., 2015) та можуть свідчити про їх участь у регуляції накопичення калози та підтримці метаболізму глюкози в рослинному організмі.

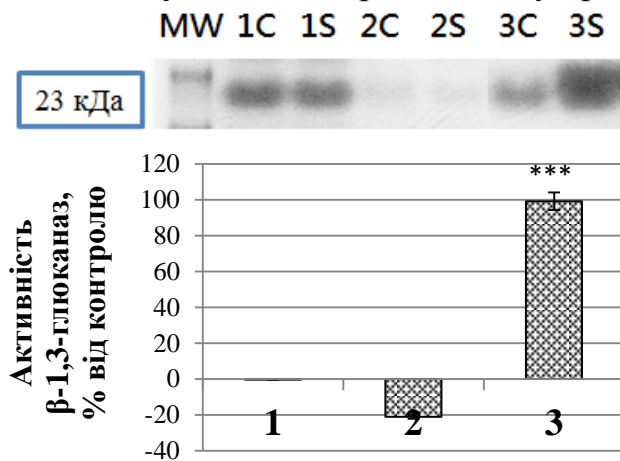


Рис. 8. Активність β -1,3-глюканаз у листках проростків пшениці м'якої та двозернянки за умов осмотичного стресу: **1** – сорт Фаворитка; **2** – сорт Трипільська; **3** – сорт Голіковська; **С** – контроль; **S** – осмотичний стрес; **MW** – маркер молекулярної маси. $M \pm SEM$, *** – $p < 0,001$ у порівнянні з контролем

Накопичення дегідринів є типовою реакцією на дію посухи або дефіциту води (Close, 1996; Kosová et al., 2014; Klimešová et al., 2017). Вони беруть участь осмотичній регуляції (Tompa et al., 2006) та забезпечують стабілізацію структури білкових молекул і мембран (Drira et al., 2013; Clarke et al., 2015). За допомогою вестерн-блот аналізу показано, що у проростків сорту Фаворитка вміст дегідринів з молекулярною масою 57 кДа за умов стресу збільшувався

майже на 30% відносно контролю (рис. 9), тоді як у сорту Голіковська відзначено накопичення дегідринів з молекулярною масою 30 кДа (на 10%). Акумуляція різних за молекулярною масою дегідринів у проростках сортів Фаворитка та Голіковська може свідчити про залучення цих протеїнів до різних адаптаційних стратегій.

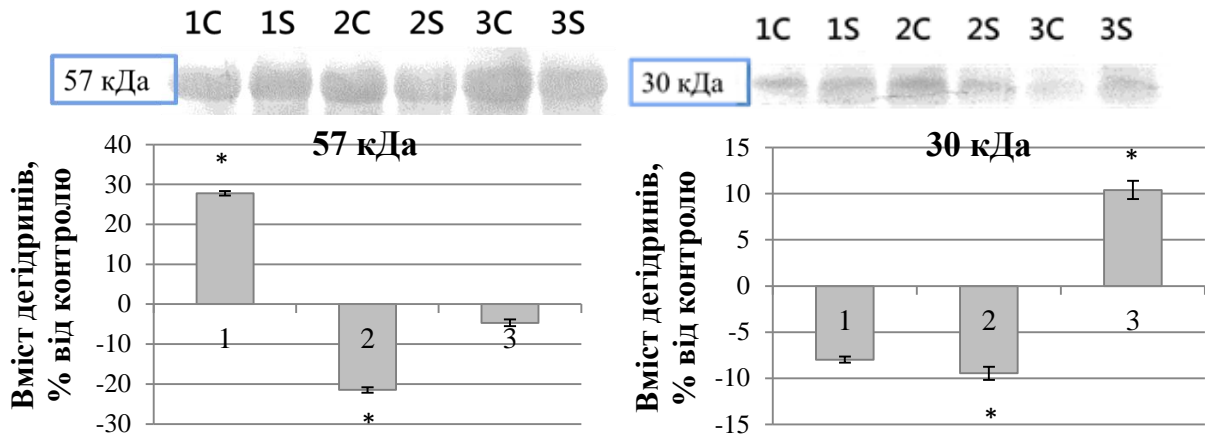


Рис. 9. Вміст дегідринів у листках проростків пшениці м'якої та двозернянки за умов осмотичного стресу: **1** – сорт Фаворитка; **2** – сорт Трипільська; **3** – сорт Голіковська; **С** – контроль; **С** – осмотичний стрес. Вестерн-блот аналіз, $M \pm SEM$, * - $p < 0,05$ у порівнянні з контролем

У сорту Трипільська спостерігали зниження вмісту дегідринів з молекулярною масою 30 та 57 кДа на 10 та 21% порівняно з контрольним варіантом, що може бути наслідком окиснення цих протеїнів в результаті інтенсивної генерації АФК за умов осмотичного стресу. З іншого боку, синтез дегідринів у сорту Трипільська у відповідь на дію стресора може відбуватися пізніше, що, у такому випадку, вказує на низьку швидкість індукції захисних реакцій рослинного організму, а також на вищу чутливість до несприятливих умов навколишнього середовища.

Оцінка стретолерантності до посухи сортів пшениці за параметрами окиснювального гомеостазу та вмістом пероксисом. Для з'ясування стретолерантності рослин до посухи було проведено дослідження 6 сортів пшениці м'якої за умов пролонгованої посухи (7 діб) у фазу цвітіння. Отримані результати показали, що вміст H_2O_2 у листках сортів Наталка та Дарунок Поділля збільшується на 58 та 29%, відповідно, за дії стресора, тоді як у інших сортів цей показник відповідав значенням контрольного варіанту, а у сорту Подолянка навіть знижувався на 23% (рис. 10А). Внаслідок пошкоджуючої дії посухи у рослинах всіх досліджуваних сортів відбувалося підвищення вмісту ТБК-активних продуктів (рис. 10Б).

За умов пролонгованого стресу у сортів Подолянка, Наталка, Поліська 90 та Дарунок Поділля спостерігали підвищення активності СОД (рис. 11), що може бути пов'язано з необхідністю утилізації надмірної кількості супероксид-аніон радикалів.

Активність КАТ підвищувалась у сортів Поліська 90 та Одеська 267 на 121 та 139%, відповідно, що може свідчити про надлишковий вміст H_2O_2 , тоді як у сорту Дарунок Поділля відсутність достовірних змін активності КАТ може

свідчити про ймовірне накопичення H_2O_2 як сигнальної молекули. Підвищення активності ГПО у сортів Поліська 90 та Одеська 267 також може вказувати на надмірне виробництво АФК у фотосинтетичних тканинах цих сортів. Виявлено, що активність АПО підвищується у всіх досліджуваних сортів за умов стресу, за винятком сорту Одеська 267. Відсутність змін активності АПО в листках сорту Одеська 267 може свідчити про активацію компенсаторних неензиматичних механізмів за умов посухи (Arel and Hirt, 2004).

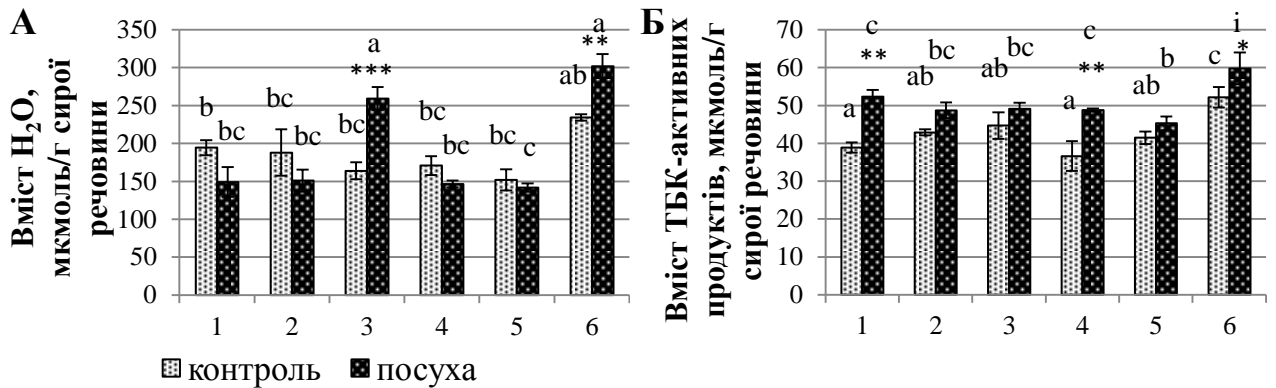


Рис. 10. Вміст H_2O_2 (А) та ТБК-активних продуктів (Б) у листках пшениці м'якої за умов посухи: **1** – Подолянка; **2** – Астарта; **3** – Наталка; **4** – Поліська 90; **5** – Одеська 267; **6** – Дарунок Поділля. $M \pm SEM$, * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ у порівнянні з контролем

З огляду на залучення всіх досліджуваних ензиматичних систем до знешкодження АФК на фоні накопичення ТБК-активних продуктів, сорт Поліська 90 не здатний подолати наслідки окиснювальних пошкоджень, викликаних посухою, що свідчить про чутливість цього сорту до дії стресора. Сорт Астарта за досліджуваними параметрами можна охарактеризувати як найбільш толерантний до пролонгованої дії посухи.

Визначення вмісту пероксисом, є перспективним для оцінки стану системи антиоксидантного захисту за умов посухи та може бути використаний для фенотипування та визначення ступеню толерантності рослин до дії різних несприятливих факторів довкілля, в т.ч. посухи. Для оцінки участі пероксисом у регуляції окисно-відновного гомеостазу клітин сортів пшениці за умов посухи використано флуоресцентний зонд N-BODIPY, що специфічно зв'язується з протеїнами пероксисом в загальному білковому екстракті та дозволяє кількісно оцінити вміст цих органел.

Виявлено, що у прапорцевих листках сорту Подолянка, що зазнавав дії посухи впродовж 7 діб у фазу цвітіння, вміст пероксисом не змінювався (рис. 12). У сорту Астарта спостерігали зниження (на 17% відносно контролю), а у Одеська 267 спостерігали підвищення (на 20%) вмісту пероксисом за дії стресора. Сорти Наталка та Поліська 90 характеризуються зниженням цього показника на 58 та 76%, відповідно, на відміну від сорту Дарунок Поділля, у якого вміст пероксисом зростав на 43%. Варто зазначити, що надмірне стрес-індуковане утворення АФК в клітинах рослин може призводити до пошкодження пероксисом і, як наслідок, пексофагії (Shibata et al., 2013; Su et al., 2016).

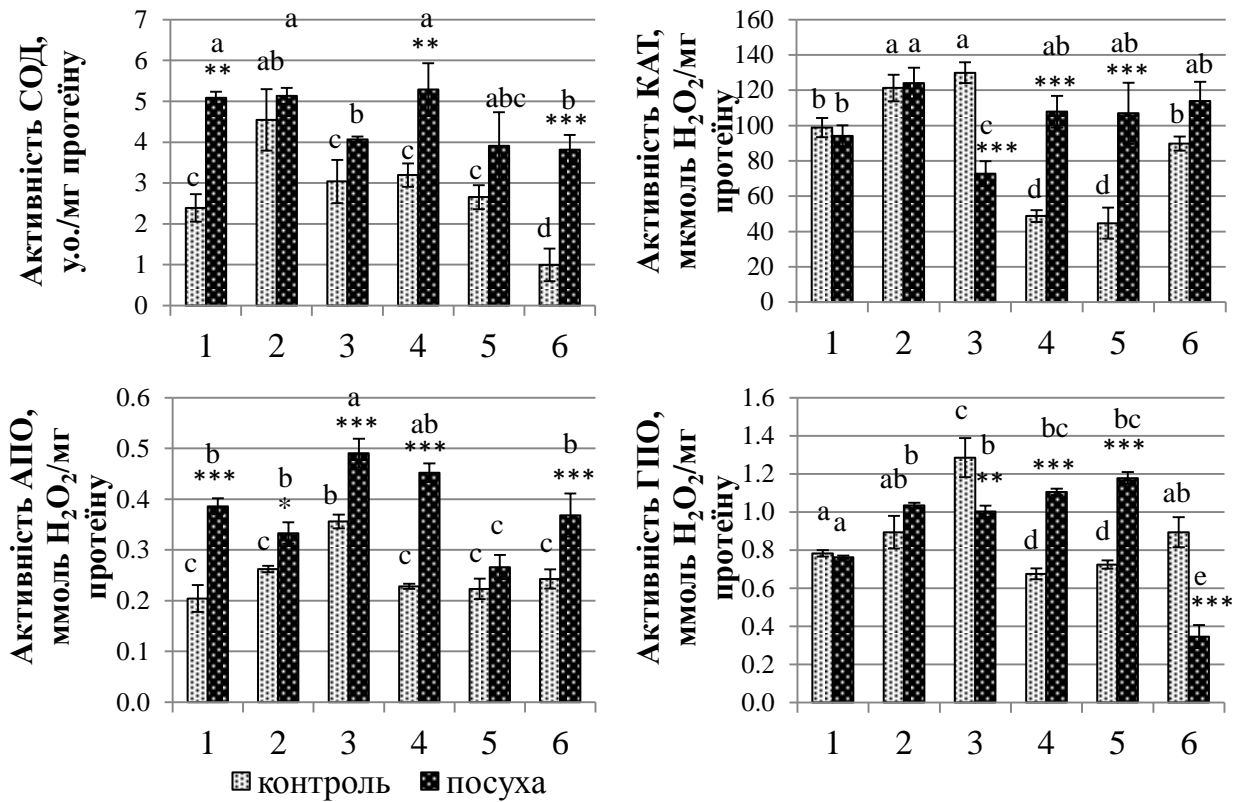


Рис. 11. Активність антиоксидантних ензимів рослин пшениці за умов посухи: **1** – Подолянка; **2** – Астарта; **3** – Наталка; **4** – Поліська 90; **5** – Одеська 267; **6** – Дарунок Поділля. М±SEM, * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ у порівнянні з контролем

Накопичення Н₂О₂ та зниження активності КАТ у прапорцевих листках сорту Наталка, ймовірно, пов'язані з деградацією пероксисом, оскільки більшість внутрішньоклітинного КАТ локалізована саме у цьому компартменті. Причиною зниження вмісту пероксисом у листках сорту Поліська 90 також може бути перекисне окиснення ліпідів, про що свідчить накопичення ТБК-активних продуктів. Різкі зміни вмісту пероксисом у відповідь на дію стресора, ймовірно, є наслідком дестабілізації внутрішньоклітинних редокс-систем та можуть вказувати на чутливість цих сортів до посухи.

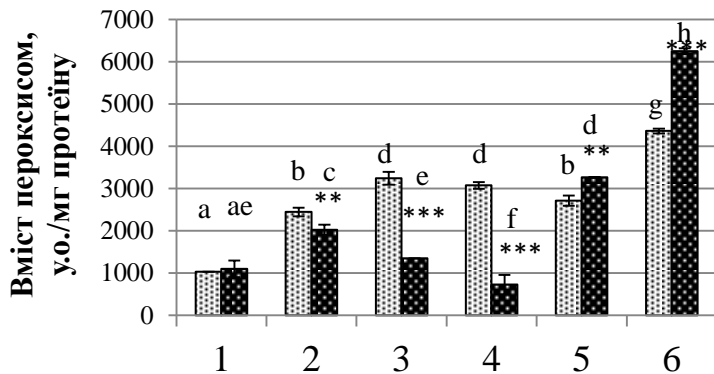


Рис. 12. Вміст пероксисом рослин пшениці за умов посухи: **1** – Подолянка; **2** – Астарта; **3** – Наталка; **4** – Поліська 90; **5** – Одеська 267; **6** – Дарунок Поділля. М±SEM, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ у порівнянні з контролем

Для виявлення взаємного впливу досліджуваних параметрів проведено кореляційний аналіз (рис. 13). Згідно отриманих результатів вміст пероксисом корелює з вмістом Н₂О₂ ($r=0,629$), що узгоджується з гіпотезою АФК-індукованої проліферації пероксисом (Smertenko, 2017). Разом з цим,

спостерігали позитивну кореляцію між вмістом пероксисом та вмістом ТБК-активних продуктів ($r=0,657$) за дії посухи, що свідчить про розвиток окиснювальних процесів внутрішньоклітинних структур та, можливо, пероксисом безпосередньо. Важливу роль у знешкодженні H_2O_2 у прапорцевих листках пшениці за умов пролонгованої дії посухи, ймовірно, відіграють пероксидази III класу, про що свідчить стійка негативна кореляція між активністю ГПО та вмістом H_2O_2 ($r=-0,711$), вмістом ТБК-активних продуктів ($r=-0,987$), а також вмістом пероксисом ($r=-0,699$).

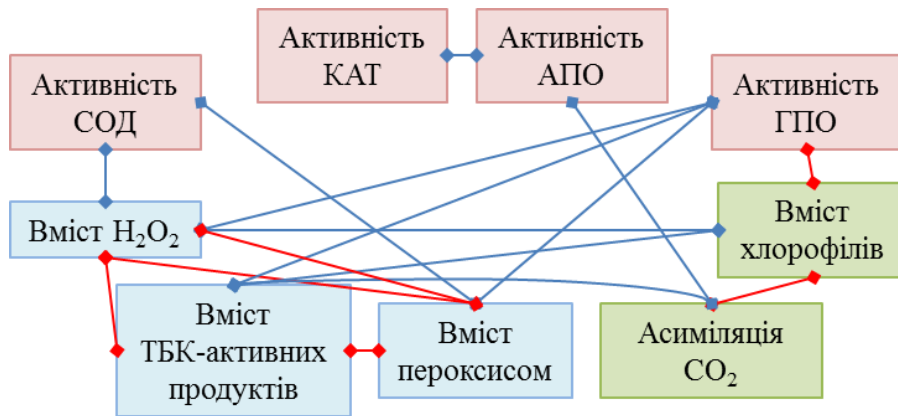


Рис. 13. Карта кореляційних зв'язків між компонентами редокс-системи клітин та фотосинтетичними параметрами за умов посухи (синім позначено негативну кореляцію, червоним – позитивну)

Регуляція адаптивних реакцій рослин нанорозмірними елементами мінерального живлення. З огляду на перспективність використання наночастинок металів як елементів мінерального живлення, а також зважаючи на дискусійність питання щодо їх впливу на агро- та природні екосистеми здійснено оцінку фітотоксичності колоїдних розчинів нанорозмірних металів срібла (Ag), заліза (Fe), мангану (Mn), міді (Cu) та цинку (Zn) за допомогою *Allium*-тесту. Результати дослідження свідчать, що застосування розчинів з вмістом наночастинок Mn здійснює позитивний вплив на ростові процеси рослин. За ступенем впливу наночастинок металів на ростові процеси їх можна розташувати таким чином $Cu > Zn > Ag > Fe$. Зважаючи на важливу роль металів Cu та Zn в перебігу основних метаболітичних процесів та участі у підтримці редокс-гомеостазу у складі антиоксидантних ензимів проведено дослідження впливу бінарної композиції нанорозмірних Cu та Zn на стан проростків сортів різних екотипів пшениці м'якої за умов посухи. Показано, що Cu, Zn-наночастки зменшують негативний вплив посухи рослин степового еко типу.

Показано, що застосування колоїдних розчинів наночастинок металів сприяє підтриманню гомеостазу рослин в умовах агроценозу шляхом індукції ензиматичної ланки системи антиоксидантного захисту, підтримки стану фотосинтетичного апарату рослин та, в результаті, призводить до підвищення урожаю рослин зернових (на 10%), а також бобових культур (12%).

ВИСНОВКИ:

У роботі наведені і обґрунтовані стратегії стретолерантності до посухи сортів пшениці м'якої (*T. aestivum*) та пшениці двозернянки (*T. dicoccum*). Показано фізіолого-біохімічні особливості формування стретолерантності досліджуваних сортів за умов короткотривалого та довготривалого впливу стресового чинника, на ранніх етапах розвитку та в процесі онтогенезу.

1. Розроблена модельна система осмотичного стресу на основі поліетиленгліколю дозволяє провести скринінг сортів пшениці за рівнем їх посухостійкості.
2. Показано, що сорти пшениці м'якої є більш чутливими до дії посухи порівняно з рослинами пшениці двозернянки, що свідчить про різновекторність стратегій підтримки окиснювального гомеостазу, обумовлених різною активністю низько- (пролін) та високомолекулярних (антиоксидантні ензими) сполук.
3. Виявлено індукцію активності хітиназ рослин пшениці м'якої за дії посухи.
4. Встановлено підвищення активності β -1,3-глюканаз з молекулярною масою 51 кДа у проростків пшениці двозернянки за умов посухи.
5. З'ясовано, що у посухостійкого сорту пшениці м'якої превалює накопичення дегідринів з молекулярною масою 57 кДа, а у сорту двозернянки – 30 кДа.
6. Оцінка ступеню проліферації пероксисом як компартменту, в якому локалізовані ключові компоненти системи редокс-гомеостазу, відображає ступінь залучення цих органел у формування відповіді на стресові умови та може бути використана для характеристики стрестолерантності рослин до посухи згідно підходів, що покладені в основу біохімічного фенотипування.
7. З'ясовано особливості регуляції стрестолерантності пшениці до посухи нанорозмірними елементами мінерального живлення. Обробка рослин наночастинками металів сприяє активації системи антиоксидантного захисту та дозволяє зменшити прояви окиснювальних процесів, що є невід'ємними наслідками дії посухи.
8. Обґрунтовано використання нанорозмірних частинок біогенних металів для регуляції адаптивного потенціалу рослин в умовах агроценозу, що сприяло підвищенню продуктивності зернових культур.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. Мусієнко М.М., Стороженко В.О., Бацманова Л.М., Серга О.І., Грудіна Н.С., Макаренко В.І., **Коваленко М.С.**, Артющенко А.П. Скринінг сортів пшениці озимої для пошуку генотипів із підвищеним адаптаційним потенціалом. *Вісник аграрної науки*. 2016; 11: 38-42. (Особистий внесок здобувача: визначення фізіолого-біохімічних показників рослин, статистична обробка даних, участь в аналізі та обговоренні результатів).

2. Рязанова М.Є., Бацманова Л.М., **Коваленко М.С.**, Михальська Л.М., Швартау В.В. Вплив іонів міді та рН середовища на антиоксидантну активність у тканинах коренів проростків озимої пшениці. *Фізіологія рослин і генетика*. 2015; 47(6): 497-504. (Особистий внесок здобувача: визначення активності основних ензимів системи антиоксидантного захисту, участь в аналізі та обговоренні результатів).

Статті у наукових фахових виданнях України,

які входять до міжнародних наукометричних баз даних:

1. Конотоп Є.О., **Коваленко М.С.**, Улинець В.З., Мелешко А.О., Бацманова Л.М., Таран Н.Ю. Дослідження фітотоксичності колоїдних розчинів металовмісних наночастинок. *Цитологія і генетика*. 2014; 48(2): 37-42.

(Особистий внесок здобувача: участь у плануванні експерименту, проведенні морфометричних та цитологічних досліджень, аналізі результатів, написанні та оформленні рукопису).

Статті в іноземних виданнях:

1. Konotop Y., **Kovalenko M.**, Batsmanova L., Taran N., Matušíková I. Proline application triggers temporal redox imbalance, but alleviates cadmium stress in wheat seedlings. *Pakistan Journal of Botany*. 2017; 49(6): 2145-2151. (Особистий внесок здобувача: участь у плануванні експерименту, визначенні фізіолого-біохімічних показників, активності основних ензимів антиоксидантного захисту, аналізі та узагальненні результатів).

2. Taran N., Storozhenko V., Sviatlova N., Batsmanova L., Shvartau V., **Kovalenko M.** Effect of Zinc and Copper Nanoparticles on Drought Resistance of Wheat Seedlings. *Nanoscale Research Letters*. 2017; 12(1): 60. (Особистий внесок здобувача: визначення активності антиоксидантних ензимів, вмісту та співвідношення фотосинтетичних пігментів, участь в аналізі та узагальненні результатів, оформлення рукопису).

3. Taran N., Batsmanova L., **Kovalenko M.**, Okanenکو A. Impact of Metal Nanoform Colloidal Solution on the Adaptive Potential of Plants. *Nanoscale research letters*. 2016; 11(1): 89. (Особистий внесок здобувача: визначення активності основних ензимів антиоксидантного захисту, вмісту та співвідношення фотосинтетичних пігментів, статистична обробка даних, участь в аналізі та узагальненні результатів, оформлення рукопису).

4. Taran N., Batsmanova L., Kosyk O., Smirnov O., **Kovalenko M.**, Honchar L., Okanenکو A. Colloidal Nanomolybdenum Influence upon the Antioxidative Reaction of Chickpea Plants (*Cicer arietinum* L.). *Nanoscale research letters*. 2016; 11(1): 476. (Особистий внесок здобувача: визначення активності антиоксидантних ензимів, вмісту та співвідношення фотосинтетичних пігментів, статистична обробка даних, участь в аналізі та узагальненні результатів, оформлення рукопису).

Тези наукових доповідей:

1. **Kovalenko M.**, Gregorová Z., Matušíková I. The chitinase and 1,3- β -glucanase activity of wheat (*Triticum aestivum* L.) and emmer (*Triticum dicoccum* Schrank ex Schübl.) under osmotic stress // 11th International Conference "Plant Functioning Under Environmental Stress" (September 12-15, 2018, Cracow, Poland). – Cracow, 2018. – P. 28.

2. **Kovalenko M.S.**, Konotop Ye.O., Karpets L.-A.M., Smirnov O.Ye., Batsmanova L.M., Taran N.Yu. Phytotoxicity of colloidal solutions of stabilized and non-stabilized nanoparticles of essential metals and their oxides // International research and practice conference: Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2018) (27-30 August 2018, Kyiv, Ukraine). – P. 89.

3. Stasik O., **Kovalenko M.**, Sokolovska-Sergiienko O., Kiriziy D., Hickey K., Nazarov T., Taran N., Batsmanova L., Sytnyk S., Cuber K., Morgun B., Panchenko O., Smertenko A. Impact of drought on photosynthetic activity, ROS homeostasis and yield in winter wheat varieties // *Plant Biology* 2018 (July 14-18, 2018, Montreal, Québec).

4. Зінченко А.В., **Коваленко М.С.**, Смірнов О.Є. Вплив посухи на фотохімічні показники функціонування фотосинтетичного апарату різних сортів *Triticum aestivum* L. // Матеріали XII Міжнародної конференції молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери» (29 листопада – 1 грудня 2017, м. Харків). – Харків, 2017. – С. 103-104.

5. **Kovalenko M.**, Konotop Ye., Smirnov O., Koval Yu., Musienko M. Growth and water consumption parameters of wheat seedlings under osmotic stress // Біологічні студії (за матеріалами IV Міжнародної конференції “Онтогенез рослин у природному та трансформованому середовищі. Фізіолого-біохімічні та екологічні аспекти” (4-6 жовтня 2017р., м. Львів)). – 2017. – Т. 11, № 3-4. – С. 65.

6. Карпець Л-А., Зінченко А., **Коваленко М.**, Смірнов О., Белавя В. Зміни вмісту фотосинтетичних пігментів проростків пшениці за дії посухи // Матеріали Міжнародної конференції молодих учених «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (м. Луцьк, 5-10 вересня 2017 року). – Луцьк, 2017. – С. 72.

7. **Kovalenko M.S.**, Konotop Ye.O., Svetlova N.B., Storozhenko V.O., Koval Yu.A. Effect of metal nanoparticles on the antioxidant activity of *Triticum* sp. plants under drought conditions // International research and practice conference: Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2017) (23-26 August 2017, Chernivtsi, Ukraine). – P. 99.

8. Коваль Ю., **Коваленко М.**, Светлова Н., Таран Н. Вплив поліетиленгліколь-індукованої посухи на ростові процеси пшениці на ранніх етапах онтогенезу // збірник тез XIII Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології» (м. Львів, 25 – 27 квітня 2017 р.). – Львів, 2017. – С. 283-284.

9. Taran N., Batsmanova L., Kosyk O., Smirnov O., **Kovalenko M.**, Gonchar L., Okanenko A. Colloidal nanomolybdenum influence upon the antioxidative reaction of chickpeas plants (*Cicer arietinum* L.) // International research and practice conference: Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2016) (24-27 August 2016, Lviv, Ukraine). – P. 507.

10. Taran N.Yu., Batsmanova L.M., **Kovalenko M.S.**, Konotop Ye.O., Gonchar L.M. Nanomolybdenum impact on chickpeas plant adaptation reaction development // Ukrainian-German Symposium on Physics and Chemistry of Nanostructures and on Nanobiotechnology (21-25 September 2015, Kyiv, Ukraine). – P. 247.

11. Taran N.Y., Batsmanova L.M., **Kovalenko M.S.**, Konotop E.O., Kosyk O.I., Nowicki N.V., Kalensky S.M. Impact of nanoform biogenic metal colloidal solution on the adaptive potential of plants // International research and practice conference: Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2015) (26-29 August 2015, Lviv, Ukraine). – P. 440.

12. Taran N.Yu., Batsmanova L.M., Konotop Ye.O., **Kovalenko M.S.**, Ulynets V.Z., Volkogon M.V., Meleshko A.O. Physiological responses of plants to non-ionic colloidal solution of metal nanoparticles // International research and practice conference: Nanotechnology and nanomaterials (NANO-2014) (22-23 August 2014, Yaremche-Lviv, Ukraine). – P. 577.

АНОТАЦІЯ

Коваленко М.С. Стрестолерантність до посухи рослин роду *Triticum L.* за параметрами біохімічного фенотипування. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.12 – фізіологія рослин. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, Київ, 2019.

Дисертаційна робота присвячена вивченню стрестолерантності до посухи пшениці м'якої (*Triticum aestivum L.*) та пшениці двозернянки (*T. dicocum Schrank ex Schübl.*) за параметрами біохімічного фенотипування. Виявлено, що генотипи пшениці, відібрані за результатами скринінгу з використанням модельної системи осмотичного стресу, за характеристиками окисного гомеостазу, специфікою накопичення дегідринів, активністю хітиназ та β -1,3-глюканаз проявляють різну реакцію на вплив стресового чинника. Продемонстровано зв'язок між вмістом пероксисом та станом антиоксидантної системи, що дозволило здійснити оцінку стрестолерантності пшениці м'якої за умов посухи. Показано перспективність використання наночастинок біогенних металів як індукторів захисних реакцій рослин, зокрема антиоксидантної системи, що сприяє підвищенню продуктивності та урожайності зернових культур.

Ключові слова: *Triticum aestivum L.*, *Triticum dicocum Schrank ex Schübl.*, стрестолерантність, посуха, фенотипування, антиоксидантний захист, дегідрини, β -1,3-глюканаза, хітиназа, пероксисоми, наночастинки металів.

АННОТАЦИЯ

Коваленко М.С. Стресс-толерантность к засухе растений рода *Triticum L.* по параметрам биохимического фенотипирования. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.12 – физиология растений. – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко МОН Украины, Киев, 2019.

Диссертационная работа посвящена изучению стресс-толерантности к засухе пшеницы мягкой (*Triticum aestivum L.*) и пшеницы двузернянки (*T. dicocum Schrank ex Schübl.*) по параметрам биохимического фенотипирования. Установлено, что отобранные по результатам скрининга с использованием модельной системы осмотического стресса генотипы пшеницы по характеристикам окислительного гомеостаза, спецификой накопления дегидринов, активностью хитиназ и β -1,3-глюканаз проявляют разную реакцию при воздействии стрессора. Продемонстрировано связь между содержанием пероксисом и состоянием антиоксидантной системы, что позволило произвести оценку стресс-толерантности пшеницы мягкой к засухе. Показано перспективность использования наночастиц биогенных металлов как индукторов защитных реакций растений, в частности, антиоксидантной системы, что способствует повышению продуктивности и урожайности зерновых культур.

Ключевые слова: *Triticum aestivum L.*, *Triticum dicocum Schrank ex Schübl.*, стресс-толерантность, засуха, фенотипирование, антиоксидантная

защита, дегидрины, β -1,3-глюканаза, хитиназа, пероксисомы, наночастицы металлов.

SUMMARY

Kovalenko M.S. Drought stress tolerance of *Triticum* L. plants by the parameters of biochemical phenotyping. – Manuscript.

The thesis for candidate of biological sciences degree, specialty 03.00.12 – plant physiology. – Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2019.

The thesis is focused on the biochemical phenotyping of drought stress tolerance of common wheat (*Triticum aestivum* L.) and emmer (*T. dicoccum* Schrank ex Schübl.) plants. It was established, that wheat genotypes, selected after screening using osmotic stress model system, have a different reaction on stress varying in the oxidative homeostasis characteristics, the specifics of the dehydrin accumulation and the activity of chitinase and β -1,3-glucanase enzymes. In particular, the development of oxidative processes, the inhibition of antioxidant enzyme activities and the decrease of the dehydrin content with a molecular weight of 57 and 30 kD were observed in common wheat of cv. Trypilska under the stress induced by polyethylene glycol, indicating on the drought sensitivity of given cultivar. Common wheat of cv. Favorytka had a higher tolerance to short-term osmotic stress, probably due to the accumulation of osmotically active compounds, in particular, proline and dehydrins. At the same time, the inhibition of the catalase activity in the cv. Favorytka was observed under the prolonged stress conditions which may contribute to the development of the oxidative processes due to the accumulation of hydrogen peroxide. The obtained results show the implementation of the genetic potential of drought tolerance of common wheat of cv. Holikovska, where development of oxidation processes and inhibition of antioxidant defense systems under prolonged stress conditions were not detected. Support of redox homeostasis in emmer plants under osmotic stress conditions is likely to be provided by effective osmoregulation and the functioning of proteins that mediate the stability of protein molecules and plasma membranes. This is confirmed by the accumulation of proline, 30 kDa dehydrin and the induction of 23 kDa β -1,3-glucanases activity.

The complex analysis of antioxidant defense systems using a highly sensitive method for determining the peroxisome abundance allow measuring the drought tolerance of 6 genotypes of common wheat, which indicates the promising use of this analysis for biochemical phenotyping of agricultural plants. Correlation analysis between the components of the redox system and photosynthetic parameters allowed to reveal a stable relationship between the content of peroxisomes, hydrogen peroxide and TBA-reactive substances, which is consistent with the hypothesis of ROS-induced peroxisome proliferation.

The perspectives of using biogenic metal nanoparticles as the inducers of plant protective reactions, in particular – an antioxidant system, which promotes the productivity of cereal crops, was demonstrated.

Keywords: *Triticum aestivum* L., *Triticum dicoccum* Schrank ex Schübl., stress tolerance, drought, antioxidant defense, dehydrins, β -1,3-glucanase, chitinase, peroxisome abundance, phenotyping, metal nanoparticles.