

ГЕНЕТИКА

УДК 633.11 [575.167:576+581.821.1+58.036.5]

Н. П. ЛАМАРИ, науч. сотруд.,
В. И. ФАЙТ, д. б. н., с. н. с., зам. дир. по науч. раб.,
О. И. НАГУЛЯК, науч. сотруд.
СГИ–НЦСС, Одесса
natalamari@rambler.ru

ВЗАИМОСВЯЗЬ СТОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЛИСТА С МОРОЗОСТОЙКОСТЬЮ ГЕНОТИПОВ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ

Исследовали связь варьирования стоматографических признаков листа с уровнем морозостойкости сортов (потомство индивидуальных растений) пшеницы мягкой. У 21 % сортов высокий уровень морозостойкости достоверно коррелировал с большей плотностью устьиц и меньшей длиной замыкающих клеток ($r_s = 0,46 \pm \pm 0,215$ и $-0,46 \pm 0,215$ соответственно). По результатам кластерного анализа выделена группа сортов, в которой высокий уровень морозостойкости ассоциирован с меньшей длиной замыкающих клеток и высокой плотностью расположения устьиц.

Ключевые слова: *Triticum aestivum L.*, устьица, замыкающие клетки, морозостойкость.

Введение. Низкие температуры являются одним из негативных абиотических стрессовых факторов среды, лимитирующих продуктивность и ареал сортов озимых культур. Воздействие мороза вызывает в клетках и тканях структурные и функциональные изменения, значительная часть которых носит защитно-приспособительный характер. В процессе адаптации к низким температурам происходит перестройка ростовых процессов, что, в свою очередь, приводит к снижению негативного воздействия промораживания на клеточные структуры. Одним из аспектов механизма устойчивости являются стоматографические признаки — длина замыкающих клеток и плотность расположения устьиц, с помощью которых растения способны контролировать свой уровень газо- и водообмена в соответствующей окружающей среде. Данный контроль осуществляется в двух направлениях: во-первых, растения могут регулировать тургор замыкающих клеток, непосредственно уменьшая устьичную диафрагму, и, как следствие этого, потери воды и газообмен, во-вторых, — путем изменения размеров замыкающих клеток устьиц и устьичной плотности в процессе развития. Casson и Hetherington [1] отметили влияние климатических факторов, таких как свет, CO_2 , относи-

тельная влажность и дефицит воды, а также гормонов, на варьирование плотности расположения устьиц, хотя механизмы, которые модулируют данные эффекторы, изучены недостаточно. Limin и Fowler [2] было предложено использовать длину замыкающих клеток устьиц как маркерный признак при отборе на повышение устойчивости растений к низким температурам. Связь варьирования плотности расположения устьиц листа в полевых условиях с уровнем морозостойкости раскустившихся растений (метод пучков) отмечена в наборе рекомбинантно-инбредных линий комбинации скрещивания Одесская 16 / Безостая 1 [3]. В свою очередь меньшая длина замыкающих клеток устьиц листа в наборе сортов отмечена у генотипов с более высоким уровнем морозостойкости [4].

У многих видов растений под воздействием положительных низких температур наблюдается увеличение морозостойкости — явление, известное как акклиматизация, или закаливание [5, 6]. В течение данного периода низкотемпературного воздействия аккумуляция нескольких регулируемых температурой генов (COR) коррелирует с уровнем морозостойкости [7]. Показано, что промоутеры нескольких генов, участвующих в адаптации к холоду и дегидратации у *Arabidopsis thaliana*, содержат С-повторы (CRT) и чувствительные к дегидратации элементы (DRE) (dehydration responsive element) [8]. Также сообщалось о DRE / CRT связанных последовательностях как о чувствительных к низкотемпературному воздействию элементах (LTREs) в промоутерах *Brassica napus* BN115 [9] и *Triticum aestivum* L. *wcs120* [10] генов. CBF/DREB (C-repet binding factor / dehydration drought responsive element binding) белки — наиболее характерные факторы транскрипции, которые связаны с CRT / DRE элементом и активируются экспрессией генов, чувствительных к воздействию холода и / или засухи [11, 12]. Так, у пшеницы выявлено несколько CBF генов, идентичных *ICE1* (INDUCER of CBF EXPRESSION 1) гену *Arabidopsis thaliana* [13], ключевая регуляторная роль которых, как в процессе адаптации к условиям холодового стресса, так и в регуляции процессов развития устьиц, отмечена рядом исследователей [14, 15]. Двойная роль *ICE1* генов — в транскрипционной регуляции к холоду и устьичной дифференциации — может быть отражением ключевой стратегии, основанной на объединении программ экологической адаптации и развития у наземных растений [16].

Целью настоящей работы является оценка взаимосвязи варьирования длины замыкающих клеток и/или плотности расположения устьиц листа с морозостойкостью проростков озимой пшеницы в зависимости от условий закаливания и температуры промораживания.

Материалы и методы. В качестве исходного материала использовали выборку из 18 сортов (потомство индивидуальных растений) озимой мягкой пшеницы, один из которых (Одесская красноколосая) был представлен двумя линиями. Преобладали сорта селекции СГИ–НЦСС (Альбатрос одесский, Борвий, Бунчук, Красень, Лузановка одесская, Одес-

ская 16, Одесская красноколосая, Пылыпивка, Порада, Прима одесская и Ужинок), также присутствовали сорта Мироновского института пшеницы им. В. М. Ремесло (Мироновская 808) и различных НИУ России (Безостая 1, Волжская 7, Воронежская 85, Оренбургская 48, Тамбовская 12, Ульяновка 76). Семена высевали на однорядковых делянках (длина ряда 1 м) по 20 зерновок на рядок с площадью питания $30 \times 5 \text{ см}^2$ рендомизированными блоками в трех повторениях в первой декаде октября 2013 года на опытном участке отдела общей и молекулярной генетики СГІ–НЦСС. Морозостойкость (% живых растений) сортов оценивали в фазе проростков, которые выращивали в бумажных рулонах согласно общепринятой методики [17]. Растения закачивали в условиях удлиненного (16 часов) дня с последующим промораживанием при -12 и -13 °С (-12 ДД и -13 ДД соответственно) и укороченного дня (12 часов) при -12 °С (-12 КД). Для статистических расчетов процент живых растений преобразовывали способом угловой трансформации в единицы ϕ -преобразования Фишера [18].

Измеряли стоматографические показатели рендомизированно на средней части абаксиальной поверхности полностью сформировавшегося третьего листа с использованием окулярного винтового микрометра М4Б-1–15 методом светлого поля в проходящем свете при увеличении 15×20 [19]. Для анализа одного генотипа у каждого из 5–10 растений проводили по 20 определений длины замыкающих клеток и количества устьиц. Плотность расположения устьиц рассчитывали путем деления количества устьиц в пределах окулярной решетки на площадь данной решетки ($0,8 \text{ мм}^2$). Для расчетов индивидуальных и генотипических показателей по признакам «длина замыкающих клеток» и «плотность расположения устьиц» использовали среднюю арифметическую и среднюю гармоническую соответственно для каждого признака [20].

Проверку нормальности распределения значений признаков осуществляли при помощи критерия Колмогорова-Смирнова (λ) [21]. Оценку достоверности влияния фактора на варьирование признака проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с помощью t -критерия Стьюдента для независимых выборок и показателя НСР (наименьшая существенная разница) — оценивали значимость различий при попарном сравнении и в дисперсионном комплексе между генотипами соответственно. Для определения тесноты корреляционной связи и варьирования признаков использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s) и коэффициент вариации (CV) соответственно [22, 23]. Достоверность разницы между двумя коэффициентами корреляции рассчитывали согласно рекомендациям Рокицкого [24].

Распределение генотипов на фенотипические классы по совокупности коррелированных признаков осуществляли методом Уорда — одной из иерархических процедур кластерного анализа [25]. Показателем сходства между кластерами в данном анализе является евклидово расстояние. Для определения количества кластеров использовали пороого-

вое евклидово расстояние на графике процесса объединения, то есть расстояние, при превышении которого объединяться будут слишком отдаленные генотипы.

Результаты и обсуждение. Предварительная оценка по критерию Колмогорова-Смирнова подтвердила соответствие распределения значений длины замыкающих клеток (ЗКУ), плотности расположения устьиц (ПРУ) и морозостойкости в изученной выборке генотипов нормальному распределению (табл. 1) и правомерность применения метода дисперсионного анализа для последующих расчетов. Обусловленность варьирования значений как стоматографических признаков, так и уровня морозостойкости, влиянием фактора «генотип» подтверждена достоверными значениями критерия Фишера.

Длина замыкающих клеток устьиц сортов изученного набора варьировала от 67,3 до 79,3 мкм. Максимальной длиной ЗКУ характеризовалась вторая линия сорта Одесская красноколосая/2 (79,3 мкм). Достоверно меньшая на 3,0–9,0 мкм ($НСР_{0,05} = 2,2$ мкм) сформировалась длина ЗКУ у остальных генотипов изученного набора.

По плотности расположения устьиц различия между генотипами составили 14,1 шт./мм² ($НСР_{0,05} = 2,6$ шт./мм²). Максимальное количество устьиц на единицу площади выявлено у сорта Тамбовская 12 (36,9 шт./мм²). Все остальные сорта изученного набора достоверно уступали указанному сорту. Наименьшая ПРУ отмечена у сорта Красень (22,8 шт./мм²). Вторая линия сорта Одесская красноколосая/2 (23,4 шт./мм²), а также сорта Лузановка одесская (24,0 шт./мм²), Безостая 1 (24,6 шт./мм²) сформировали несколько большее количество устьиц на единицу площади листа, но данное увеличение оказалось несущественным. Следует отметить наличие средней отрицательной связи ($r_s = -0,69$) между варьированием длины ЗКУ и ПРУ в данном наборе, о чем свидетельствовала высокая достоверность ($P \leq 0,01$) коэффициента ранговой корреляции между данными признаками. Следовательно, у почти 50 % генотипов ($R^2=0,48$) увеличение длины ЗКУ сопряжено с уменьшением плотности расположения устьиц или наоборот — увеличение ПРУ с уменьшением длины ЗКУ.

Большие различия между сортами по уровню морозостойкости ($CV=47,4$ %) выявлены при закаливании растений в условиях удлиненного (16 часов) дня и температуре промораживания -13 °С (-13 °С ДД). В данном варианте средний уровень морозостойкости сортов составил 44,8 %, а максимальный и минимальный 87,5 % (Ульяновка 76) и 10,0 % (вторая линия сорта Одесская красноколосая/2) соответственно. Четыре сорта (Безостая 1, Порада, Альбатрос одесский и Волжская 7) достоверно не отличались по данному признаку от сорта Ульяновка 76, а Лузановка одесская (13,5 %), Бунчук (19,5 %), Тамбовская 12 (25,2 %), Оренбургская 48 (27,4 %) и Воронежская 85 (33,7 %) — от линии Одесская красноколосая/2.

Таблица 1
Средние значения стоматографических признаков и морозостойкости сортов пшеницы при разных условиях закаливания

Сорт	Длина ЗКУ ¹ , мкм $\bar{x} \pm S_x$	ПРУ ² , шт./мм ² , $\bar{Hx} \pm S_x$	Морозостойкость												d ₁	d ₂
			-12 °С ДД ³			-13 °С ДД ⁴			-12 °С КД ⁵							
			%	\bar{x}	$\bar{\phi}, \bar{x} \pm S_x$	%	\bar{x}	$\bar{\phi}, \bar{x} \pm S_x$	%	\bar{x}	$\bar{\phi}, \bar{x} \pm S_x$					
Альбатрос одесский	73,0±1,78	27,7±2,06	91,4	2,6±0,12	66,9	2,0±0,34	66,2	1,9±0,17	24,5	25,2*						
Безостая 1	75,9±0,99	24,6±1,17	23,2	1,0±0,04	74,8	2,1±0,28	34,6	1,3±0,05	-51,6*	-11,4*						
Борвуй	76,3±1,10	27,0±1,26	64,1	1,9±0,02	51,1	1,6±0,31	67,3	2,0±0,25	13,0	-3,2						
Бунчук	71,7±1,24	25,7±0,98	93,3	2,6±0,06	19,5	0,9±0,10	91,3	2,6±0,07	73,8**	2,0						
Волжская 7	73,9±0,87	27,9±0,89	90,0	2,5±0,16	64,9	1,9±0,41	82,9	2,3±0,19	25,1	7,1						
Воронежская 85	71,9±1,04	27,7±1,26	87,3	2,5±0,14	33,7	1,2±0,14	76,7	2,2±0,14	53,6**	10,6						
Красень	69,4±0,83	22,8±1,12	87,3	2,6±0,21	40,8	1,4±0,23	65,3	1,9±0,07	46,5**	22,0*						
Лузановка одесская	76,0±1,65	24,0±1,39	26,9	1,0±0,33	13,5	0,6±0,33	34,6	1,2±0,25	13,4	-7,7						
Мионовская 808	70,7±1,35	29,5±2,14	92,8	2,7±0,24	49,6	1,6±0,25	76,7	2,1±0,11	43,2*	16,1						
Одесская 16	67,8±0,70	31,4±0,88	93,1	2,6±0,04	45,2	1,5±0,16	68,9	2,0±0,12	47,9**	24,2**						
Одесская красноколосая/1	74,6±0,97	27,7±0,67	32,9	1,2±0,25	36,7	1,3±0,09	39,6	1,3±0,32	-3,8	-6,8						
Одесская красноколосая/2	79,3±0,56	23,4±0,98	48,9	1,5±0,07	10,0	0,5±0,27	60,7	1,8±0,01	38,9*	-11,8*						
Оренбургская 48	67,3±1,47	31,3±1,57	96,7	2,8±0,15	27,4	1,0±0,35	69,3	2,0±0,21	69,3**	27,4*						
Пыльпивка	71,0±0,81	27,8±0,83	69,1	2,0±0,14	37,9	1,3±0,19	42,8	1,4±0,18	31,2*	26,3*						
Порада	73,6±0,68	25,6±0,96	96,4	2,9±0,12	70,4	2,0±0,12	86,8	2,4±0,07	26,0**	9,6**						
Прима одесская	69,0±1,80	29,0±1,37	87,4	2,6±0,32	46,8	1,5±0,17	96,7	2,8±0,15	40,6*	-9,3						
Тамбовская 12	68,6±2,21	36,9±3,38	82,4	2,3±0,14	25,2	0,9±0,48	78,7	2,2±0,06	57,2*	3,7						
Ужинок	73,8±0,57	25,9±0,52	94,0	2,7±0,10	50,2	1,5±0,46	58,0	1,7±0,16	43,8*	36,0**						
Ульяновка 76	70,6±1,00	28,2±0,87	72,0	2,1±0,21	87,5	2,4±0,09	65,9	1,9±0,15	-15,4	6,1						
$\lambda_{\text{фактическое}}$	0,05	0,12	-	0,15	-	0,06	-	0,07	-	-						
F фактическое	7,73**	6,42**	-	10,45**	-	3,38**	-	6,47**	-	-						
НСР _{0,05}	2,2	2,6	-	0,3	-	0,5	-	0,3	-	-						

Примечание: ¹ЗКУ — замыкающие клетки устьиц; ²ПРУ — плотность расположения устьиц; ³-12 °С ДД и ⁴-13 °С ДД — закаливание в условиях удлиненного (16 часов) дня и промораживание при -12 и -13 °С, соответственно; ⁵-12 °С КД — закаливание в условиях укороченного (12 часов) дня и промораживание при -12 °С; d₁ — разница между вариантами -12 °С ДД и -13 °С ДД; d₂ — разница между вариантами -12 °С ДД и -12 °С КД; * и ** — достоверно при P≤0,05 и P≤0,01 соответственно.

В условиях удлиненного (16 часов) дня повышение температуры промораживания до -12°C (-12°C ДД) привело к уменьшению варьирования на 14,7 % ($\text{CV}=32,7\%$) и достоверному ($t=4,25$; $t_{0,05}=2,04$, $\text{df}=36$) увеличению на 30,4 % среднего уровня морозостойкости сортов до 75,2 % в сравнении с таковым в варианте -13°C ДД, а также к смене рангов сортов по морозостойкости. Размах варьирования уровня морозостойкости сортов в варианте опыта -12°C ДД составил 73,5 % — от 23,2 (Безостая 1) до 96,7 % (Оренбургская 48). Показатели морозостойкости Лузановки одесской (26,9 %) и первой линии Одесской красноколосой/1 (32,9 %) достоверно не отличались от таковых у Безостой 1. У сортов Порада, Ужинок, Бунчук, Одесская 16, Мироновская 808, Альбатрос одесский, Волжская 7, Прима одесская, Красень, Воронежская 85 сформировался более низкий уровень морозостойкости, который достоверно не отличался от такового Оренбургской 48. Следует также отметить достоверное увеличение уровня морозостойкости большинства сортов (Бунчук, Оренбургская 48, Тамбовская 12, Воронежская 85, Одесская 16, Красень, Ужинок, Мироновская 808, Прима одесская, Одесская красноколосая /2, Пылыпивка, Порада) на 73,9–26,0 % в варианте опыта -12°C ДД в сравнении с таковым -13°C ДД. В то же время увеличение температуры промораживания на один градус вызвало существенное снижение уровня морозостойкости сорта Безостая 1 на 52 %.

Сокращение на четыре часа продолжительности дня в период закаливания (укороченный 12-часовой день) и последующее промораживание при -12°C способствовало уменьшению варьирования признака на 5,2 % ($\text{CV}=27,5\%$) и недостоверному ($t=1,55$; $t_{0,05}=2,04$; $\text{df}=36$) снижению среднего уровня морозостойкости набора сортов на 8,7 % (до 66,5 %) по сравнению с вариантом -12°C ДД. Разнообразие сортов по морозостойкости в данном варианте составило 62,1 % — от 34,6 у Лузановки одесской и Безостой 1 до 96,7 % у Примы одесской. Первая линия сорта Одесская красноколосая/1 (39,6 %) и сорт Пылыпивка (42,8 %) достоверно не отличались от первых двух сортов, а сорт Бунчук (91,3 %) — от сорта Прима одесская. Также в данных условиях отметили снижение уровня морозостойкости сортов: Ужинок, Оренбургская 48, Пылыпивка, Альбатрос одесский, Одесская 16, Красень и Порада на 36,0–9,6 % в сравнении с таковым при -12°C и закаливании в условиях 16-часового дня, в свою очередь у второй линии сорта Одесская красноколосая/2 и Безостой 1, наоборот, — увеличение на 11,8 и 11,4 % соответственно.

Коэффициент ранговой корреляции между двумя вариантами -12°C КД и -12°C ДД равен $r_s=0,60 \pm 0,194$ ($P \leq 0,01$), т. е. независимо от различий по продолжительности дня в процессе закаливания ранги 36 % образцов по морозостойкости при -12°C совпадают. В то же время корреляция между значениями морозостойкости вариантов -12°C КД и -13°C ДД отсутствовала ($r_s=0,06 \pm 0,242$), как и между вариантами -12°C ДД и -13°C ДД ($r_s=0,16 \pm 0,239$).

В полевых условиях закаливание растений озимой пшеницы проходит в условиях естественного укороченного дня. Ранее нами было показано [4], что высокий уровень морозостойкости раскустившихся растений в середине января и конце февраля связан с меньшей длиной замыкающих клеток устьиц и большей ПРУ. В изученном наборе сортов также выявлена достоверная связь как большей плотности устьиц, так и меньшей длины замыкающих клеток сортов с высоким уровнем морозостойкости при $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ и закаливании в условиях укороченного дня ($r_s = 0,46 \pm 0,215$ и $-0,46 \pm 0,215$ соответственно). Следовательно, у 21 % ($R^2=0,21$) сортов данной выборки высокий уровень морозостойкости обусловлен наличием большего количества устьиц на единицу площади листа и меньшей длиной замыкающих клеток. В частности, максимальная морозостойкость в данном варианте опыта ($-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ КД) отмечена у мелкоклеточного сорта Прима одесская и сорта со средней длиной клеток Бунчук (рис. 1, а), а минимальная морозостойкость — у трех наиболее крупноклеточных сортов: Лузановка одесская, Безостая 1, Одесская красноколосая/1 и у относительно мелкоклеточного сорта Пылыпивка. Вместе с тем средние значения морозостойкости групп сортов с минимальными, средними и максимальными значениями длины замыкающих клеток составили 75,8, 63,3 и 60,7 % соответственно.

Максимальная ПРУ сорта Тамбовская 12 и минимальная сорта Красень связаны с довольно высоким (79 %) и средним соответственно (65 %) уровнем морозостойкости при промораживании $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ КД (рис. 1, б) Максимальную морозостойкость в данном варианте опыта отметили у сорта Прима одесская — со средней плотностью расположения устьиц, а минимальную — у двух пар сортов с минимальными (Лузановка одесская и Безостая 1) и со средними (Одесская красноколосая/1 и Пылыпивка) значениями данного признака. Достоверно выше ($t = 2,33$; $t_{0,05} = 2,12$) на 21,9 % средний уровень морозостойкости зафиксирован у группы сортов со средними значениями ПРУ в сравнении с минимальными, который составил 48,8 %.

Увеличение на четыре часа продолжительности дня в период закаливания в варианте опыта $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ ДД достоверно не способствовало как усилению ($t=0,34$; $t_{0,05}=2,04$, $df = 34$), так и ослаблению ($t=-0,53$; $t_{0,05}=2,04$, $df = 34$) связей между варьированием уровня морозостойкости и значений стоматографических признаков — длины ЗКУ ($r_s=0,55 \pm 0,210$, $P \leq 0,05$) и ПРУ ($r_s=-0,30 \pm 0,231$, $P \geq 0,05$) соответственно в сравнении с таковыми, полученными в варианте опыта $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ КД (см. выше по тексту). Максимальная морозостойкость в варианте опыта $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ ДД связана как с мелкими (Оренбургская 48, Одесская 16, Прима одесская и Красень), так и со средними (Мироновская 808, Бунчук, Альбатрос одесский, Ужинок и Порада) размерами замыкающих клеток (рис. 1, в). В свою очередь минимальная морозостойкость отмечена у сортов Безостая 1, Лузановка одесская и первой линии Одесская красноколосая со средними

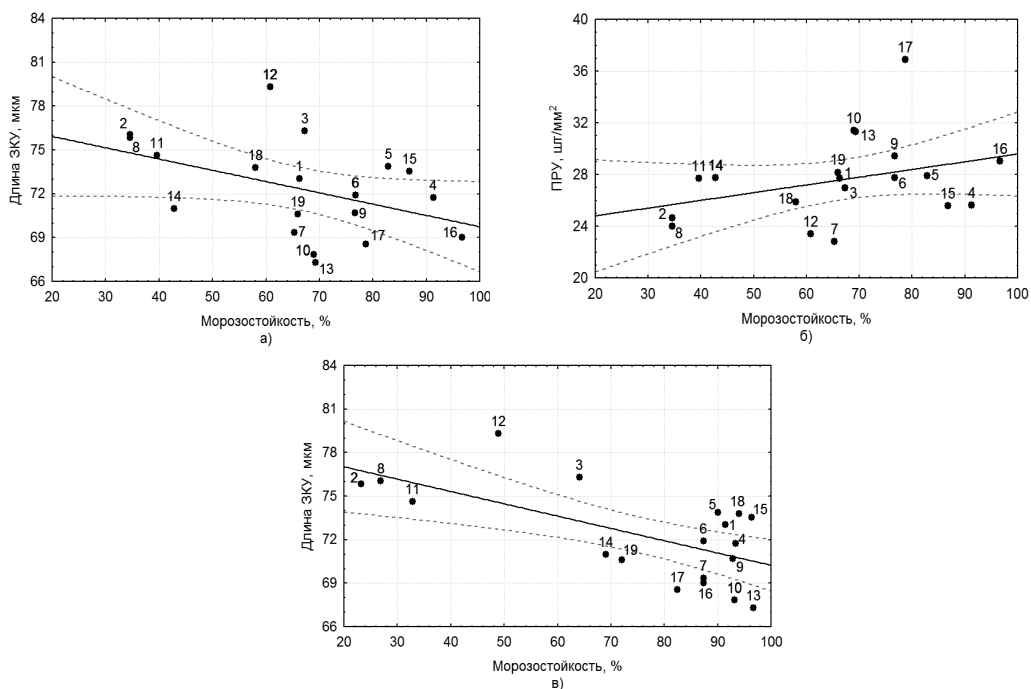


Рис. 1. Диаграммы рассеивания сортов в корреляционном поле и линия регрессии: а) длины ЗКУ и морозостойкости при -12°C КД; б) ПРУ и морозостойкости при -12°C КД; в) длины ЗКУ и морозостойкости при -12°C ДД. Сорта: 1 — Альбатрос одесский; 2 — Безостая 1; 3 — Борвий; 4 — Бунчук; 5 — Волжская 7; 6 — Воронежская 85; 7 — Красень; 8 — Лузановка одесская; 9 — Мироновская 808; 10 — Одесская 16; 11 — Одесская красноколосая/1; 12 — Одесская красноколосая/2; 13 — Оренбургская 48; 14 — Пылыпивка; 15 — Порада; 16 — Прима одесская; 17 — Тамбовская 12; 18 — Ужинок; 19 — Ульяновка 76

размерами клеток. В варианте опыта -12°C ДД средний уровень морозостойкости группы сортов с минимальными размерами замыкающих клеток составил 89,4 %, что достоверно ($t = 4,84$; $t_{0,01} = 3,36$, $df = 8$) превысило таковой — с максимальными значениями по данному признаку на 40,5 %.

По характеру распределения генотипов наиболее контрастное деление по уровню морозостойкости получено в варианте опыта -12°C ДД в сравнении с таковым при -12°C КД, что может быть обусловлено действием генов фотопериодической чувствительности (рис. 1, в). На графиках диаграмм рассеивания расположение группы крупноклеточных сортов (в левом верхнем углу) с низкой морозостойкостью не претерпело изменений в результате варьирования продолжительности дня при закаливании и последующем промораживании при -12°C (рис. 1, а и в). Размещение же мелкоклеточных сортов вдоль линии регрессии с более высокой морозостойкостью (в нижнем правом углу) было менее компактным при промораживании -12°C КД по сравнению с таковым при -12°C ДД. Следовательно, увеличение продолжительности дня при за-

каливании с 12 до 16 часов способствует более контрастному распределению генотипов по уровню морозостойкости проростков при $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$.

При закаливании в условиях удлиненного дня и промораживании при $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$ связь длины ЗКУ и ПРУ с морозостойкостью отсутствовала ($r_s=0,06 \pm 0,242$ по обоим признакам). Данный факт, видимо, обусловлен слишком низкой температурой промораживания, которая является критической для жизнеспособности растений на стадии проростков и, как следствие, не способствует адекватной дифференциации генотипов данной выборки. Следовательно, уровень морозостойкости проростков в большей мере зависел от температурного режима промораживания, и в меньшей — от продолжительности дня при закаливании. Наличие достоверных корреляционных связей между стоматографическими признаками и морозостойкостью при $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ ДД и $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ КД оправдывало их объединение в комбинацию как интегральную характеристику для проведения кластерного анализа и установления уровня гетерогенности изученной выборки генотипов. На рисунке 2 отображена близость между группами генотипов по оси ОХ, выраженная в единицах евклидова расстояния, и этапы объединения — по оси ОУ. Координаты первой и второй точек «перелома» по оси ОУ — 3,7 и 6,3 свидетельствуют о целесообразности подсчета числа кластеров на уровнях данных значений евклидова расстояния. После выбора порогового расстояния провели перпендикуляр через точку, соответствующую выбранному расстоянию, и подсчитали количество пересечений данной линии с «ветвями» дендрограммы (рис. 3).

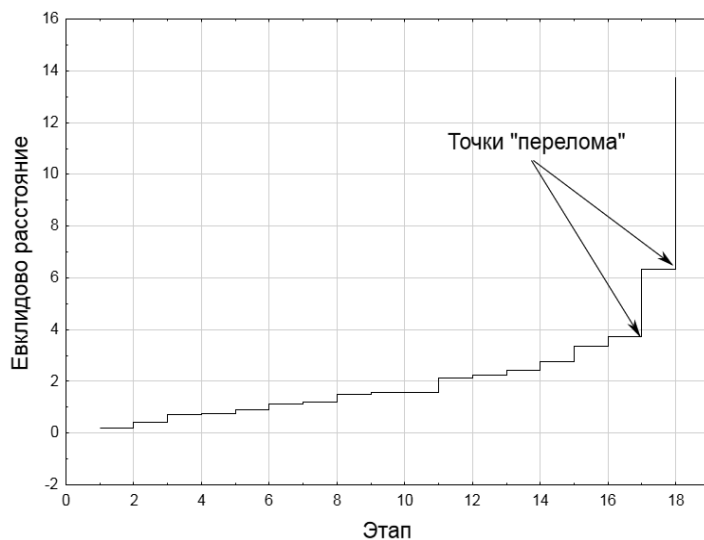


Рис. 2. Расстояние между группами генотипов с указанием точек «перелома» и максимальных значений дистанций по комплексу признаков (длина замыкающих клеток устьиц листа, плотность расположения устьиц листа и морозостойкость проростков)

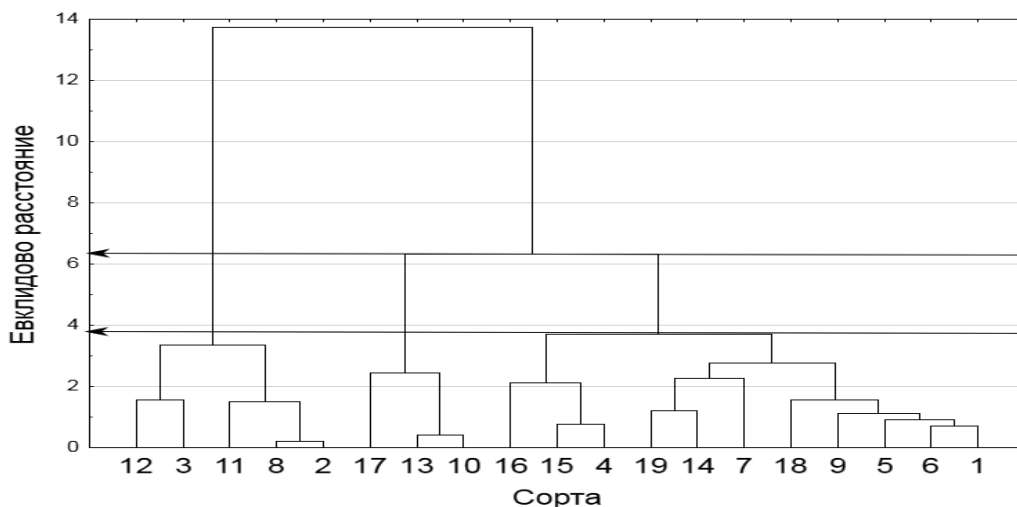


Рис. 3. Дендрограмма кластерного анализа выборки сортов озимой пшеницы по комплексу коррелированных характеристик

Примечание: названия сортов — см. рис. 1.

Вследствие того, что меньший процент достоверных различий между кластерами при попарном сравнении по изученным признакам получен между четырьмя (60 %) в сравнении с таковым между тремя кластерами (75 %), последний был выбран как самый информативный на уровне 6,3 евклидова расстояния. Средние значения изученных признаков трех кластеров, а также достоверность различий при попарном сравнении последних приведены в таблице 2.

Таблица 2

Средние значения стоматографических признаков и морозостойкости групп сортов озимой пшеницы различных кластеров

Клас-тер	n	Длина ЗКУ, мкм, $\bar{x} \pm S_x$	ПРУ, шт./мм, $Hx \pm S_x$	-12°C ДД		-12°C КД	
				%, \bar{x}	$\varphi, \bar{x} \pm S_x$	%, \bar{x}	$\varphi, \bar{x} \pm S_x$
1	5	76,4±0,73 ^{2,3*}	25,3±0,94 ²	39,2	1,3±0,13 ^{2,3}	47,4	1,5±0,16 ^{2,3}
2	3	67,9±0,94 ^{1,3}	33,2±1,22 ^{1,3}	90,7	2,6±0,17 ¹	72,3	2,0±0,21 ¹
3	11	71,7±0,49 ^{1,2}	27,1±0,64 ²	87,4	2,5±0,09 ¹	73,6	2,1±0,11 ¹
\bar{x}	6	72,0±4,28	28,2±2,39	72,4	2,1±0,41	64,4	1,9±0,19

Примечание: расшифровка сокращений — см. табл.1; *¹ — достоверность при $P \leq 0,05$ различий при попарном сравнении с кластером 1; ² — с кластером 2; ³ — с кластером 3.

По признаку «длина ЗКУ» выявили достоверные ($P \leq 0,05$) различия между кластерами. Максимальные значения по данному признаку отмечены в первом кластере, а минимальные — во втором, в свою очередь третий кластер занял промежуточное положение. По плотности устьиц второй кластер существенно превысил на 6,1 и 7,9 шт./мм² третий и пер-

вый кластеры соответственно, в свою очередь последние между собой не различались. По морозостойкости при обоих режимах закаливания первый кластер достоверно уступал двум другим, из которых тенденция к увеличению данного признака в варианте $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ ДД отмечена у второго кластера, а в варианте $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ КД — у третьего.

В первом кластере преобладали сорта с большей длиной ЗКУ, меньшей плотностью устьиц и более низким уровнем морозостойкости. У сортов, сформировавших второй кластер, прослеживалась связь высокого уровня морозостойкости при $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ ДД с минимальной длиной ЗКУ и максимальной ПРУ. В третий кластер вошли сорта с разным уровнем морозостойкости. Так, по результатам промораживания при $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ ДД преобладали сорта (82 %) с уровнем морозостойкости, превысившим средний показатель по выборке. В свою очередь по результатам промораживания после закаливания на укороченном дне доля таких сортов уменьшилась до 54 %. Также в третьем кластере преобладали сорта с длиной ЗКУ, значения которой были меньше средней по выборке (64 %). Более высокий уровень морозостойкости при закаливании в условиях укороченного дня, в сравнении с таковым удлиненного, может свидетельствовать о меньшей чувствительности к длине дня сортов [26], отнесенных к первому кластеру. У сортов второго и третьего кластеров средний уровень морозостойкости по кластеру снизился вместе с продолжительностью дня при закаливании. Необходимо отметить, что обе линии, выделенные из сорта Одесская красноколосая, вошли в один — первый кластер, в котором преобладали генотипы с наибольшей длиной клеток и наименьшей плотностью устьиц и самым низким уровнем морозостойкости.

Выводы. Сорта изученного набора достоверно различались как по обоим стоматографическим признакам (длина замыкающих клеток и плотность расположения устьиц), так и по морозостойкости проростков при промораживании -12 и $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$ и закаливании в условиях удлиненного и укороченного дня. В условиях удлиненного дня повышение температуры промораживания до $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ привело к уменьшению варьирования на 14,7 % ($CV = 32,7\%$) и достоверному ($t=4,25$; $t_{0,05} = 2,04$) увеличению на 30,4 % среднего уровня морозостойкости сортов в сравнении с таковым при $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($CV = 47,4\%$). Сокращение на четыре часа продолжительности дня в период закаливания при промораживании $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ способствовало уменьшению варьирования на 5,2 % ($CV=27,5\%$) и недостоверному снижению среднего уровня морозостойкости набора сортов на 8,7 %. Отметим наличие достоверных отрицательных корреляций между длиной замыкающих клеток и уровнем морозостойкости сортов при $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ и закаливании в условиях укороченного и удлиненного дня ($r_s = -0,46 \pm 0,215$ и $-0,55 \pm 0,210$ соответственно), а также положительной связи плотности расположения устьиц с морозостойкостью при $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ и закаливании в условиях укороченного дня ($r_s = 0,46 \pm 0,215$). По результатам кластер-

ного аналізу виділена група сортів (Одеська 16, Оренбургська 48 і Тамбовська 12), в яких високий рівень морозостійкості асоційований з меншою довжиною замикаючих кліток і високою щільністю розташування устьиць.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Casson S. A., Hetherington A. M. Environmental regulation of stomatal development // *Current Opinion in Plant Biology*. — 2010. — V. 13, № 1. — P. 90–95.
2. Limin A. E., Fowler D. B. Inheritance of cell size in wheat (*Triticum aestivum* L.) and its relationship to the vernalization loci // *Theoretical and Applied Genetics*. — 2001. — V. 103, № 2. — P. 277–281.
3. Ламарі Н. П., Файт В. І. Аналіз зв'язку між щільністю продихів та морозостійкістю м'якої пшениці // *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Підвищення стійкості рослин до хвороб і екстремальних умов середовища в зв'язку із задачами селекції»*, Харків, 11–12 червня 2013 р. — Харків, 2013. — С. 97.
4. Ламарі Н. П., Файт В. І. Зв'язок стоматографічних ознак з морозостійкістю сортів та рекомбінантно-інбредних ліній м'якої озимої пшениці // *Матеріали міжнародної наукової конференції «Селекція і генетика сільськогосподарських рослин: традиції і перспективи»*, Одеса, 17–19 жовтня 2012 г. — Одеса, 2012. — С. 266–267.
5. Baker S. S., Wilhem K. S. and Thomashow M. F. The 50-region of *Arabidopsis thaliana* cor15a has cis-acting elements that confer cold-, drought- and ABA-regulated gene expression // *Plant Mol. Biol.* — 1994. — V. 24. — P. 701–713.
6. Yamaguchi-Shinozaki K. and Shinozaki K. A novel cis-acting element in an *Arabidopsis thaliana* gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress // *Plant Cell*. — 1994. — V. 6. — P. 251–264.
7. Knight H., Veale E. L., Warren G. J. and Knight M. R. The *sfr6* mutation in *Arabidopsis* suppresses low-temperature induction of genes dependent on the CRT/DRE sequence motif // *Plant Cell*. — 1999. — V. 11. — P. 875–886.
8. Baker S. S., Wilhem K. S. and Thomashow M. F. The 50-region of *Arabidopsis thaliana* cor15a has cis-acting elements that confer cold-, drought- and ABA-regulated gene expression // *Plant Mol. Biol.* — 1994. — V. 24. — P. 701–713.
9. Jiang C., lu B. and Singh J. Requirement of a CCGAC cis-acting element for cold induction of the BN115 gene from winter *Brassica napus* // *Plant Mol. Biol.* — 1996 — V. 30. — P. 679–684.
10. Ouellet F., Vazquez-Tello A. and Sarhan F. The wheat wcs120 promoter is cold inducible in both monocotyledonous and dicotyledonous species // *FEBS Lett.* — 1998. — V. 423. — P. 324–328.
11. Shinwari Z. K., Nakashima K., Miura S., Kasuga M., Seki M., Yamaguchi-Shinozaki K. and Shinozaki K. An *Arabidopsis* gene family encoding DRE/CRT binding proteins involved in low — temperature-responsive gene expression // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1998. — V. 250. — P. 161–170.
12. Thomashow M. F. So what is new in the field of plant cold acclimation? Lots! // *Plant Physiol.* — 2001. — V. 125. — P. 89–93.
13. Badawi M., Reddy Y. V., Agharbaoui Z., Tominaga Y., Danyluk J., Sarhan F., Houde M. Structure and functional analysis of wheat ICE (Inducer of CBF Expression) genes // *Plant and Cell Physiology*. — 2008. — V. 49. — P. 1237–1249.

14. Chinnusamy V., Ohta, M., Kanrar, S., Lee, B. H., Hong, X., Agarwal, M. and Zhu, J. K. ICE1: A regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in Arabidopsis. *Genes Dev.* — 2003. — V. 17. — P. 1043–1054.
15. Kanaoka M. M., Pillitteri L. J., Fujii H., Yoshida Y., Bogenschutz N. L., Takabayashi J., Zhu J. K., Torii K. U. SCREAM/ICE1 and SCREAM2 specify three cell-state transitional steps leading to Arabidopsis stomatal differentiation // *Plant Cell.* — 2008. — V. 20. — P. 1775–1785.
16. Hofmann N. R. They All Scream for ICE1/SCRM2: Core Regulatory Units in Stomatal Development // *Plant Cell.* — 2008. — V. 20. — P. 1732.
17. Феоктістов П. О., Гаврилов С. В., Ляшок А. К., Григорюк І. П., Мельничук М. Д. Методологічні принципи оцінки озимої пшениці на терморезистентність в умовах Півдня України: Метод. рекомендації. — К.: Видавничий центр НАУ, 2006. — 36 с.
18. Лакин Г. Ф. Биометрия. — Москва: Высшая школа, 1990. — 352 с.
19. Абрамова Л. И., Орлова И. Н., Вишнякова М. А., Константинова Л. Н., Орел Л. И., Огородникова В. Ф. Цитологическая и цитозембриологическая техника (для исследования культурных растений). — Л.: ВИР, 1982. — 119 с.
20. Зайцев Г. Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. — М.: Наука, 1984. — 424 с.
21. Лемешко Б. Ю., Лемешко С. Б. Сравнительный анализ критериев проверки отклонения распределения от нормального закона // *Метрология.* — 2005. — № 2. — С. 3–24.
22. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. — М.: Агропромиздат, 1985. — 343 с.
23. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — М.: Колос, 1973. — 327 с.
24. Ллойд Э., Ледерман У. Справочник по прикладной статистике. — М.: Финансы и статистика, 1989. — Т.1. — 510 с.
25. Файт В. І. Морозостійкість і урожайність окремих сортів озимої м'якої пшениці // *Вісник аграрної науки.* — 2005. — № 11. — С. 25–29.

Надійшла 6.11.2014.

UDC 633.11[575.167:576+581.821.1+58.036.5]

Lamari N. P., Fayt V. I, Naguliak O. I. Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

RELATIONSHIP BETWEEN STOMATAL LEAF CHARACTERISTICS AND FROST RESISTANCE OF BREAD WHEAT GENOTYPES

The guard cells length and the stomata density are interdependent traits ($r_s = -0,67 \pm 0,176$) of plants adaptive response to abiotic stress. The study of relationship between stomatographic traits variation and frost resistance seedlings depending on the day length (12 and 16 hours) in the cold hardening period and freezing temperatures (-12 and -13 °C) in winter bread wheat cultivars was the purpose of this study. The largest variation (CV = 47,4 %) in the frost resistance identified under long-day conditions (16 hours) and

freezing temperature $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$. Raise the freezing temperature to $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ after the cold hardening of plants in the long day length conditions resulted in decrease variation by 14,7 % ($CV = 32,7\%$) and statistically significant ($t = 4,25$; $t_{0,05} = 2,04$) increase by up to 30,4 % average frost resistant varieties. Reduce of the day length duration of four hours in cold hardening period contributed to decrease variation by 5,2 % ($CV = 27,5\%$). The high level of frost resistance at $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ in hardening under shortened day conditions significantly correlated with both higher stomata density and shorter guard cells ($r_s = 0,46 \pm 0,215$ and $-0,46 \pm 0,215$, respectively). According to the results of the cluster analysis allocated group varieties (Odesskaya 16, Orenburgskaya 48 and Tambovskaya 12) whose high frost resistance is associated with shorter guard cells and higher stomata density.

УДК 633.11[575.167:576+581.821.1+58.036.5]

Ламарі Н. П., Файт В. І., Нагуляк О. І.

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК СТОМАТОГРАФІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЛИСТА З МОРОЗОСТІЙКІСТЮ ГЕНОТИПІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ

Довжина замикаючих клітин і щільність розташування продихів є взаємозалежними ознаками ($r_s = -0,67 \pm 0,176$) адаптивної реакції рослин до абіотичних стресів. Метою даного дослідження було вивчення варіювання стоматографічних ознак і рівня морозостійкості залежно від тривалості дня (12 і 16 годин) в період загартування і температури проморожування (-12 і $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$) проростків сортів озимої пшениці. Найбільше варіювання ($CV = 47,4\%$) рівня морозостійкості виявлено при загартуванні рослин в умовах подовженого (16 годин) дня і температурі проморожування $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$. Підвищення температури проморожування до $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ та загартування рослин в умовах подовженого дня призвело до зменшення варіювання на 14,7 % ($CV = 32,7\%$) і достовірного ($t = 4,25$; $t_{0,05} = 2,04$) збільшення на 30,4 % середнього рівня морозостійкості сортів. Скорочення на чотири години тривалості дня в період загартування сприяло зменшенню варіювання на 5,2 % ($CV = 27,5\%$). Високий рівень морозостійкості при $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ і загартуванні в умовах скороченого дня достовірно корелював з вищою щільністю продихів і меншою довжиною замикаючих клітин сортів ($r_s = 0,46 \pm 0,215$ і $-0,46 \pm 0,215$, відповідно). За результатами кластерного аналізу виділена група сортів (Одеська 16, Оренбурзька 48 і Тамбовська 12), у якій високий рівень морозостійкості був асоційований з меншою довжиною замикаючих клітин і високою щільністю розташування продихів.