

УДК 577.152.087:581.2

ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЛИПОКСИГЕНАЗЫ И ПИГМЕНТОВ ФОТОСИНТЕЗА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

И. В. Косаковская¹
Л. М. Бабенко¹
Т. Д. Скатерная²
А. Ю. Устинова¹

¹Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАНУ, Киев, Украина

²Институт биоорганической химии и нефтехимии, Киев, Украина

E-mail: lilia.babenko@gmail.com

Получено 11.04.2014

Изучено влияние температурного режима на пигментный состав и активность липоксигеназы проростков морозоустойчивого сорта *Triticum aestivum* L. Володарка. У 7-дневных проростков количество хлорофилла *a* после охлаждения уменьшалось. Соотношение хлорофиллы *a+b*/каротиноиды возрастало после прогрева с 10,9 до 18,5. У 14-дневных проростков охлаждение вызывало увеличение количества хлорофилла *a*, соотношение хлорофиллов *a/b* увеличивалось с 2,13 до 2,97, в то же время уменьшалось содержание хлорофилла *b* и каротиноидов. В надземной части проростков выявлены две изоформы липоксигеназы: ЛОГ-1 (рН 7,0) и ЛОГ-2 (рН 6,0), в корнях — одна изоформа 9-ЛОГ (рН 6,5). После теплового и перекрестного температурного воздействия активность липоксигеназы увеличивалась как в надземной части, так и в корнях. Для 9-ЛОГ из корней зафиксировано снижение активности после охлаждения. Выявленные изменения в пигментном спектре и активности липоксигеназы могут быть составляющими адаптивных реакций на температурные флуктуации. Полученные результаты открывают перспективу использования количественных соотношений фотосинтетических пигментов и активности липоксигеназы в качестве маркеров отбора при создании новых высокотехнологичных сортов сельскохозяйственных культур.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., липоксигеназа, пигменты, температурный режим.

Важным фактором роста, развития и урожайности сельскохозяйственных культур является температурный режим. Отклонения от обычной для вида температуры вызывают дестабилизацию метаболических процессов. Предполагается, что ответные реакции на стрессовые факторы обеспечивают кратковременную защиту растений, а в дальнейшем участвуют в формировании механизмов специализированной адаптации [1].

Пигментный комплекс высших растений объединяет основные фотосинтетические пигменты — хлорофиллы и каротиноиды, которые передают дополнительную энергию на хлорофиллы (светособирающая функция), а также отводят избыточную энергию от хлорофиллов (светозащитная функция) [2]. Поглощая квант солнечной энергии, пигменты трансформируют его в энергию химических связей. Количество фотосинтетических пигментов, динамика накопления их в растении рассматриваются как важный показатель продуктивности сельскохозяй-

ственных культур [3–5]. Пигменты, как показал ряд исследований, чувствительны к воздействию отдельных неблагоприятных внешних факторов [6–9]. Так, высокотемпературный стресс сопровождался увеличением количества хлорофилла *b* и уменьшением соотношения хлорофилла *a* и хлорофилла *b* у видов рода *Solidago* L. [8]. При совместном действии агростимулина и лазерного облучения увеличивалось количество хлорофиллов и каротиноидов в растениях пшеницы [6]. Установлено, что в адаптации пигментного аппарата степных растений к экологическим факторам задействована трансформация светособирающего комплекса, в частности изменения в соотношениях хлорофиллов *a/b* и хлорофиллов *a+b*/каротиноиды [10]. Количественные изменения в содержании пигментов рассматриваются как биомаркеры экологического состояния мест произрастания видов [8].

Среди компонентов, участвующих в формировании адаптивных реакций, важная

роль принадлежит физиологически активным (сигнальным) продуктам метаболизма, а также ферментам, которые принимают участие в образовании сигнальных посредников [11]. К таковым, в частности, относятся липоксигеназы (ЛОГ), катализирующие присоединение молекулярного кислорода к цис-цис-1,4-пентадиеновой системе в молекулах линолевой, линоленовой и арахидоновой кислот [12, 13]. Активность ЛОГ рассматривается в качестве биологического маркера физиологического состояния растения [14]. Установлено, что высокая температура, ионизирующее излучение, озон, ионы кальция, оксид водорода и другие факторы вызывали увеличение активности ЛОГ [11]. Уменьшение активности ЛОГ наблюдается после действия низкой температуры, полиаминов, абсцизовой и фумаровой кислот [15, 16]. Интенсификация метаболизма ЛОГ в стрессовых условиях происходит в результате как активации уже существующих в клетках форм фермента, так и увеличения их количества [17].

Цель настоящего исследования состояла в анализе реакций 7- и 14-дневных проростков морозоустойчивого сорта озимой пшеницы Володарка на изменения температурного режима для выявления возможного участия липоксигеназы и пигментного комплекса в адаптации к неблагоприятным температурным условиям.

Материалы и методы

Озимая пшеница *Triticum aestivum* L. сорта Володарка относится к короткостебельным пшеницам высокоинтенсивного типа, морозо- и засухоустойчива, устойчива к полеганию, характеризуется высокой экологической пластичностью, выращивается в Лесостепной и Полесской зонах. Этот сорт принадлежит к принципиально новым селекционным продуктам. Он получен с помощью метода хромосомной инженерии и имеет в составе своего генома ржаные транслокации. При благоприятных климатических условиях и использовании интенсивных технологий выращивания этот сорт дает урожай до 100 ц/га зерна (генетический потенциал достигает 115–124 ц/га) [18].

Откалиброванные семена перед посевом стерилизовали в течение 3 мин в растворе перманганата калия (насыщенного цвета), затем в течение 2 мин в этаноле (96%) и 1 мин в растворе нитрата серебра (0,1%). После каждого этапа семена промывали в стерильной дистиллированной воде, затем переносили в

чашки Петри на увлажненную фильтровальную бумагу и оставляли на одни сутки при температуре +24 °С, плотности фотосинтетического фотонного потока 110 мкмоль/м²·с, фотопериод составлял 16:8 (день:ночь). При отсутствии визуальных признаков заражения плесневыми грибами через 24 ч проклюнувшиеся семена пересаживали в горшки объемом 0,5 л по 20 растений в каждый на минеральный субстрат фирмы «Grodan» (Украина); условия культивирования не изменяли. Ежедневно в субстрат вносили по 100 мл дистиллированной воды 0,5 л субстрата 50 растений. Для создания условий теплового и холодного стрессов проростки в возрасте 7 и 14 дней подвергали в течение 2 ч воздействию температур +40 °С и +4 °С. Для моделирования перекрестного стресса на 14-дневные проростки, которые в возрасте 7 дней были подвергнуты холодному стрессу, воздействовали тепловым стрессом.

Для выделения пигментов навеску растительного материала (0,2 г) растирали в ступке с 0,5 г стеклянного порошка и 0,5 г Na₂SO₄ (безводного). Полученную смесь переносили на фильтры Шотта и экстрагировали 3 мл ацетона. В кювету вносили 3,25 мл ацетона и 0,25 мл экстракта. Измерения проводили на спектрофотометре СФ 46 (Россия) ($\lambda = 662, 644$ и $440,5$ нм). Количество пигментов определяли по формуле Хольм-Ветшттейна [19].

Для выделения препарата ЛОГ надземную часть и корни проростков гомогенизировали в охлажденном до +4 °С 0,1 М фосфатном буфере (рН 6,3), содержащем 2 мМ ФМСФ, 0,04%-й натрийметабисульфит (масса/объем). Гомогенат центрифугировали на центрифуге WPW-310 (Польша) при 10 000 об/мин, при температуре +4 °С в течение 30 мин. Полученный супернатант использовали для определения активности ЛОГ. Количество протеина в пробах определяли по методу [20]. Кинетические измерения проводили на спектрофотометре СФ 46. Для построения кривых рН-зависимости стационарных скоростей реакции липоксигеназного окисления линолевой кислоты использовали 0,1 М натрий-ацетатный (рН 4,0–5,5), 0,1 М натрий-фосфатный (рН 6–8) и 0,1 М боратный (рН 8,0–9,5) буферные растворы. Стандартная реакционная смесь для определения ЛОГ-активности объемом 2,5 мл содержала: натрий-фосфатный буферный раствор (0,1 М, рН 7,0) или натрий-фосфатный буферный раствор (0,1 М, рН 6,0) или натрий-фосфатный буферный раствор (0,1 М, рН 6,5), 0,02% луброл РХ (вес/объем), 100 мкМ линолевою кислоту [21]. Иници-

ацию реакции осуществляли при постоянной температуре $25 \pm 0,1$ °С, добавив к супернатанту 20–100 мкл раствора энзима (концентрация протеина 0,5–1,5 мг/мл). За ходом реакции наблюдали, учитывая увеличение оптической плотности реакционной смеси при $\lambda = 235$ нм. Это соответствует максимальному поглощению сопряженного диенового хромофора в молекуле гидропероксида линоленовой кислоты, молярный коэффициент поглощения которого составляет $23\,000\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [22]. Все опыты проводили в двух биологических и трех аналитических повторяемостях. Статистическую обработку результатов осуществляли, используя программы Excel 2002, Origin 6.0. Отличия обсуждаемых результатов возможно при уровне значения $P \leq 0,05$ согласно критерию Стьюдента. В таблицах и на графике представлены средние арифметические и их стандартные ошибки.

Результаты и обсуждение

Установлено, что в контрольных условиях количество хлорофиллов и каротиноидов у 14-дневных проростков по сравнению с 7-дневными возрастало (рис. 1, 2). Известно, что увеличение уровня фотосинтетических пигментов сопровождается усилением интенсивности фотосинтеза, вследствие чего повышается прирост вегетативной массы растений [4]. У 7-дневных проростков количество хлорофилла *a* после холодового стресса уменьшалось, в то время как тепловой стресс вызывал увеличение уровня хлорофилла *b* и незначительное уменьшение каротиноидов (рис. 1). Соотношение хлорофиллы *a+b*/каротиноиды возрастало после теплового стресса с 10,9 до 18,5 (табл. 1). У 14-дневных проростков холодовой стресс вызывал увеличение количества хлорофилла *a*, соотношение хлорофиллов *a/b* увеличивалось с 2,13 до 2,97, в то же время уменьшалось

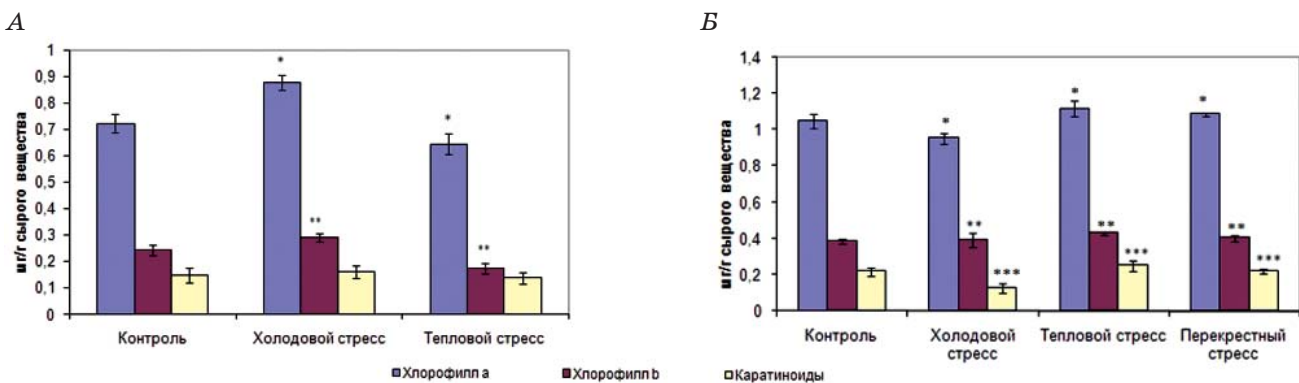


Рис. 1. Содержание пигментов в 7- (А) и 14- (Б) дневных проростках *Triticum aestivum* L., сорт Володарка в контроле и после температурных стрессов:

холодовой +4 °С, 2 ч; тепловой +40 °С, 2 ч; перекрестный — 7 дней (+4 °С, 2 ч) + 14 дней (+40 °С, 2 ч); *, **, *** — $P \leq 0,05$ по сравнению с соответствующим контролем

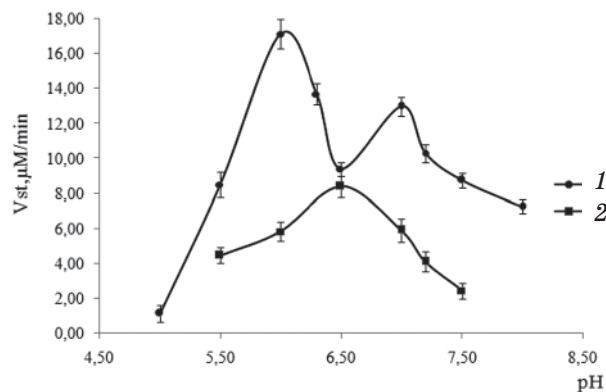


Рис. 2. Зависимость стационарной скорости реакции (V_{st}) окисления линолевой кислоты от pH инкубационной среды: в надземной части (1) и корнях (2) проростков *Triticum aestivum* L. сорта Володарка

содержание хлорофилла *b* и каротиноидов (рис. 1). Величину соотношения хлорофиллов *a/b* рассматривают в качестве одного из признаков фотосинтетической активности, а при стрессовых условиях используют как маркер устойчивости [1, 8]. Наиболее выраженные изменения зафиксированы после холодового стресса для величины соотношения хлорофиллы *a+b*/каротиноиды (табл. 1). Тепловой стресс сопровождался увеличением количества каротиноидов и уменьшением величины соотношения хлорофиллы *a+b*/каротиноиды с 8,3 до 6,7. У проростков, предварительно подвергнутых холодовому стрессу, после теплового воздействия это соотношение уменьшалось не столь значительно. Изменения в спектре пигментов после перекрестного стресса указывают на адаптацию фотосинтетического пигментного комплекса, которая произошла в результате предварительного воздействия низкой температуры на 7-дневные проростки. Выявленные изменения в спектре пигментов указывают на участие хлорофилла *a* в формировании устойчивости к действию низкой температуры. Ранее нами было установлено, что в проростках жароустойчивого сорта озимой пшеницы Ятрань 60 после кратковременного охлаждения величина соотношения хлорофиллов *a/b* уменьшалась [23]. Выявленное в настоящем исследовании увеличение соотношения хлорофиллов *a/b* после охлаждения у проростков озимой пшеницы сорта Володарка коррелирует с признаком его морозоустойчивости (табл. 1). В целом пигментный комплекс активно реагирует на изменение температурного режима, что позволяет предположить участие пигментов в формировании первоначальной кратковременной адаптации.

Одной из главных физиологических функций липоксигеназ является синтез сигнальных соединений, задействованных в адаптации растений к стрессам [24]. В надземной части проростков озимой пшеницы сорта Володарка нами были выявлены две изоформы 9-ЛОГ: ЛОГ-1 (pH 7,0) и ЛОГ-2 (pH 6,0), в корнях — одна 9-ЛОГ (pH 6,5) (рис. 2). В контрольных условиях активность ЛОГ-1 из надземной части и 9-ЛОГ из корней у 7-дневных проростков была выше, чем у 14-дневных. Активность ЛОГ-2 из надземной части, напротив, у 14-дневных проростков значительно возрастала (табл. 2). Таким образом, в ходе онтогенеза растений пшеницы изменяется соотношение между молекулярными формами ЛОГ.

Активность ЛОГ рассматривают как биологический маркер физиологического состояния растения [12]. Выявленные нами изменения в активности ЛОГ после температурных стрессов носили специфический характер. Так, после кратковременного прогрева активность всех изоформ 9-ЛОГ увеличивалась. Однако наиболее значительное увеличение было зафиксировано для 9-ЛОГ-2 из надземной части (на 136%) у 7-дневных и 9-ЛОГ из корней (на 190%) у 14-дневных проростков. Выявленные изменения в активности изоформ 9-ЛОГ после холодового воздействия были менее выражены, за исключением активности ЛОГ-2 из надземной части у 7-дневных проростков, которая возрастала на 32% (табл. 2). Зафиксированное нами снижение уровня активности ЛОГ после охлаждения было слабо выраженным, что согласуется с признаком морозоустойчивости исследуемого сорта озимой пшеницы. В работах других авторов показано, что холодовой стресс угнетает активность 9-ЛОГ [25].

Таблица 1. Влияние температуры на пигментный спектр *Triticum aestivum* L., сорт Володарка (мг/г сырого вещества)

Образец	Хлорофиллы <i>a/b</i>	Хлорофиллы <i>a+b</i>	Хлорофиллы <i>a+b</i> /каротиноиды
Контроль, 7 дней.	2,16	0,94	10,9
+4 °С, 2 ч	2,03*	0,926*	9,9*
+40 °С, 2 ч	1,81*	1,02*	18,5*
Контроль, 14 дней	2,13	1,15	8,3
+4 °С, 2 ч	2,97**	1,14**	9,1**
+40 °С, 2 ч	2,34**	1,10**	6,7**
Перекрестный стресс 7 дней (+4 °С, 2 ч) + 14 дней (+40 °С, 2 ч)	2,44**	1,15**	7,0**

Примечание. Здесь и в табл. 2: * — $P \leq 0,05$ по сравнению с контролем «7 дней», ** $P \leq 0,05$ — по сравнению с контролем «14 дней».

Таблица 2. Активность изоформ 9-липоксигеназы, выделенной из надземной части (ЛОГ-1 и ЛОГ-2) и из корней проростков *Triticum aestivum* L. сорта Володарка (мкмоль гидропероксида линолевой кислоты /мин·мкг протеина)

Образец	ЛОГ-1 (надземная часть)	%	ЛОГ-2 (надземная часть)	%	ЛОГ (корни)	%
Контроль, 7 дней	327,03±16,05	100	48,72±8,45	100	61,07±6,11	100
+4 °С, 2 ч	298,01±11,23*	91	64,48±7,07*	132	59,50±5,45*	97
+40 °С, 2 ч	379,12±14,13*	115	115,17±7,21*	236	102,44±5,22*	167
Контроль, 14дней	146,87±19,14	100	322,01±5,22	100	28,91±6,34	100
+4 °С, 2 ч	177,63±13,02**	120	354,12±4,24**	109	23,66±3,08**	82
+40 °С, 2 ч	211,58±14,56**	144	404,88±3,15**	125	84,03±4,72**	290
Перекрестный стресс 7 дней (+4 °С, 2 ч) +14дн. (+40 °С, 2 ч)	182,04 ± 7,20**	123	378,67±5,06**	117	79,01±9,81**	273

После перекрестного стресса активность ЛОГ-1 и ЛОГ-2 из надземной части проростков увеличивалась по сравнению с контролем. Активность 9-ЛОГ из корней проростков после перекрестного температурного воздействия существенно увеличивалась (на 173%) и была близка к активности образцов после теплового стресса. В целом охлаждение проростков в 7-дневном возрасте слабо влияло на их реакцию на прогрев в 14-дневном возрасте. Активность разных молекулярных форм 9-ЛОГ в надземной части и корнях 14-дневных проростков мало отличалась от величин, характерных для проростков, которые подвергали только прогреву (табл. 2). Это может быть обусловлено отсутствием пролонгированных физиологических эффектов кратковременного воздействия температуры +4 °С.

Функционирование 9-ЛОГ ассоциируется преимущественно с цитоплазматической мембраной [14]. Показано, что липоксигеназная активность локализована на мембранах микросом и митохондрий [26]. Рост активности изоформ 9-ЛОГ в корнях и надземной части указывает на участие продуктов липоксигеназного каскада в формировании защитных и стабилизационных реакций во время действия высокой температуры. В проростках жароустойчивого сорта ози-

мой пшеницы Ятрань 60 мы отмечали снижение активности ЛОГ, локализованной в корнях, после холодового стресса [23]. При изучении проростков контрастных по термостойкости сортов *Brassica napus* var. *Oleifera* мы также выявили связь между активностью липоксигеназы и терморезистентностью [27]. В целом, активность 9-ЛОГ достаточно лабильно изменяется в ответ на температурные воздействия, что позволяет рассматривать ее в качестве потенциального маркера устойчивости растений. В результате проведенного исследования выявлены специфические изменения в показателях активности изоформ липоксигеназы, а также количестве и соотношении хлорофиллов и каротиноидов в проростках морозоустойчивого сорта озимой пшеницы Володарка в ответ на кратковременные охлаждение и нагрев. Эти эффекты рассматриваются нами в качестве компонентов клеточной адаптации к действию кратковременных температурных флуктуаций.

Авторы выражают благодарность академику НАН Украины В. В. Моргуну за предоставление семенного материала для проведения физиолого-биохимических исследований, научное обсуждение, консультации.

REFERENCES

1. Pyatygin S. S. Stress in the plants: a physiological approach. *Zh. obshchei biologii*. 2008, 69(4), 294–311. (In Russian).
2. Ladygin V. G., Shirshikova G. N. The current concepts of functional role of carotenoids in the eukaryotic chloroplasts. *Zh. obshchei biologii*. 2006, V. 67, P. 163–189. (In Russian).
3. Andrianova U. E., Tarchevsky I. A. Chlorophyll and plant productivity. *Moscow: Nauka*. 2000, 135 p. (In Russian).
4. Morgun V. V., Schwartau V. V., Kiriziy D. A. Physiological basis for obtain high yields of wheat. *Fiziologiya i biokhimiya kulturnykh rastenii*. 2008, 40(6), 463–479. (In Ukrainian).

5. *Shadchina T. M.* Functional characteristics of the photosynthetic apparatus of the modern varieties of winter wheat. *Fiziologiya i biokhimiya kulturnykh rastenii*. 2010, 42(4), P. 339–347. (In Ukrainian).
6. *Buchko H., Buchko R., Khrunyk N., Romaniuk N., Terek O.* The photosynthetic pigments and sugars level in wheat plants under laser irradiation and agrostymulin treatment. *Visnyk L'viv. univer. Ser. Biol.* 2002, Is. 29, P. 211–217. (In Ukrainian).
7. *Dzhavadian N., Karimzade G., Mafuzi S., Ganati F.* Cold-induced changes in the activity of enzymes and proline content, carbohydrates and chlorophyll in wheat. *Physiologiya rastenii*. 2010, 57(4), 580–588. (In Russian).
8. *Stanetska D., Koloval I., Dzhurenko N., Palamarchuk O.* Effect of high stress on the pigment complex of species of the genym *Solidago L.* in the reproductive period. *Sci. Bull. Uzhorod. univer. (Ser. Biol.)*. 2011, V. 30, P. 192–196. (In Ukrainian).
9. *Taran N. Yu., Tagel Din M. M., Musiyenko M. M., Okanenko O. A.* Heat resistance of different ecologic origin wheat varieties. *Ukr. botan. zh.* 1996, 53(1–2), 42–47. (In Ukrainian).
10. *Ivanov L. A., Ronzhina D. A., Yudin P. K.* Changes in the Chlorophyll and Carotenoid Contents in the Leaves of Steppe Plants along a Latitudinal Gradient in South Ural. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2013, 60(6), 856–864.
11. *Kolybaev Yu., Karpets Yu.* Formation of plants adaptive reactions to abiotic stressors influence. *Kyiv: Osnova*, 2010. 352 p. (In Russian).
12. *Porta H., Rocha-Sosa M.* Plant lipoxygenases. Physiological and molecular features. *Plant Physiol.* 2002, 130(1), 15–21.
13. *Feussner I., Wasternack C.* The lipoxygenase pathway. *Annual Review of Plant Biology*. 2002, V. 53, P. 275–297.
14. *Tarchevsky I. A.* Signaling systems of plant cells. *Moscow: Nauka*. 2002, 294 p. (In Russian).
15. *Zherebtsov N. A., Popova T. N., Zyablova T. V.* Fumaric acid is a competitive inhibitor of wheat germ lipoxygenase. *Biochem. (Mosc)*. 2000, 65(5), 620–621.
16. *Nemchenko A., Kunze S., Feussner I.* Duplicate maize 13-lipoxygenase genes are differentially regulated by circadian rhythm, cold stress, wounding, pathogen infection, and hormonal treatments. *J. Exp. Bot.* 2006, 57(14), 3767–3779.
17. *Laxalt A. M.* Phospholipids signaling in plant defense. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2002, 5 (4), 332–338.
18. *Morgun V. V., Sanin E. V., Schwartau V. V.* Club 100 centners. *Kyiv: Lohos*. 2008, 87 p. (In Ukrainian).
19. *Musienko M. M., Parshikova T. V., Slavnyy P. S.* Methods of spektrofotometriya in practice of physiology, biochemistry and plant ecology. *Kyiv: Fitosotsiotsentr*. 2001, 201 p. (In Ukrainian).
20. *Bradford M. M.* A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976, V. 2, P. 248–254.
21. *Butovich I. A., Tsys' E. V., Mogilevich T. V.* Linoleic acid and methyl linoleate oxidation by potato and soybean lipoxygenases: a comparative study. *Biochemistry*. 1992, V. 57, Publ. 10, P. 1472–1480.
22. *Gibtan M., Vanderberger B.* Product yield on oxygenation of linoleate by soybean lipoxygenase: the value of the molar extinction coefficient in the spectrophotometric assay. *Anal. Biochem.* 1987, 63(2), 343–349.
23. *Babenko L. M., Kosakivska I. V., Skaterna T. D., Ustinova A. Yu.* Influence of hypo- and hyperthermia on lipoxygenase activity, content of pigments and soluble proteins in *Triticum aestivum L.* cv. Yatran 60 seedlings. *Plant Physiol. Gen.* 2014, 46(3), 212–220.
24. *Babenko L. M., Kosakivska I. V., Skaterna T. D., Kharchenko O. V.* Plant lipoxygenases in adaptation to abiotic stresses. *Bull. Kharkiv natsional ahr. univer. (Ser. Biol.)*. 2013, 2(29), 6–19. (In Ukrainian).
25. *Kopich V. M., Kharchenko O. V.* Study of the effect of salt stress and abscisic acid on lipoxygenase activity of maize. *Dopovidi Nats. acad. nauk Ukrainy*. 2011, N 12, P. 148–152. (In Ukrainian).
26. *Braidot E., Petrussa E., Micolini S.* Biochemical and immunochemical evidences for the presence of lipoxygenase in plant mitochondria. *J. Exp. Bot.* 2004, 55(403), 1655–1662.
27. *Kosakivska I. V., Babenko L. M., Ystinova A. U., Skaterna T. D., Demievska K.* The influence of temperature conditions on lipoxygenase activity in seedling of rape *Brassica napus* var. *Oleifera*. *Dopovidi Nats. acad. nauk Ukrainy*. 2012. N 6, P. 134–137 (In Ukrainian).

**ТЕРМОЧУТЛИВІСТЬ ЛІПОКСИГЕНАЗИ
ТА ПІГМЕНТІВ ФОТОСИНТЕЗУ
ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ**

*I. В. Косаківська*¹
*Л. М. Бабенко*¹
*Т. Д. Скатерна*²
*А. Ю. Устинова*¹

¹Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАНУ,
Київ, Україна

²Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії
НАНУ, Київ, Україна

E-mail: lilia.babenko@gmail.com

Вивчено вплив температурного режиму на спектр пігментів і активність ліпоксигенази проростків морозостійкого сорту *Triticum aestivum* L. Володарка. У 7-денних проростків кількість хлорофілу *a* після короткотривалого охолодження (+4 °C, 2 год) зменшувалась. Співвідношення хлорофіли *a+b*/каротиноїди зростало після короткотривалого прогріву (+40 °C, 2 год) з 10,9 до 18,5. У 14-денних проростків холододовий стрес викликав збільшення кількості хлорофілу *a*, співвідношення хлорофілів *a/b* збільшувалося з 2,13 до 2,97, водночас зменшувався вміст хлорофілу *b* і каротиноїдів. У надземній частині проростків виявлено дві ізоформи ліпоксигенази: ЛОГ-1 (рН 7,0) і ЛОГ-2 (рН 6,0), у коренях — одна 9-ЛОГ (рН 6,5). Після теплового і перехресного температурного впливу активність ліпоксигенази збільшувалась як у надземній частині, так і в коренях. Для 9-ЛОГ із коренів зафіксовано зниження активності після охолодження. Виявлені зміни в пігментному спектрі й активності ліпоксигенази розглядають як складові адаптивних реакцій на дію температурних флуктуацій. Одержані результати відкривають перспективу використання кількісних співвідношень фотосинтетичних пігментів та активності ліпоксигенази як маркерів відбору під час створення нових високотехнологічних сортів сільськогосподарських культур.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., ліпоксигеназа, пігменти, температурний режим.

**THERMOSENSITIVITY OF LIPOXYGENASE
AND PHOTOSYNTHESIS PIGMENTS
OF WINTER WHEAT**

*I. V. Kosakivska*¹
*L. M. Babenko*¹
*T. D. Skaternaya*²
*A. Yu. Ustinova*¹

¹Holodniy Institute of Botany of the National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Institute of Bioorganic Chemistry and Oil
Chemistry of the National Academy of Sciences
of Ukraine, Kyiv, Ukraine

E-mail: lilia.babenko@gmail.com

The effects of temperature regime on the pigments spectrum and lipoxygenase activity of the frost-resistant winter wheat *Triticum aestivum* L. cv. Volodarka seedlings were analyzed. After short-term cooling (+4 °C, 2 h) the amount of chlorophyll *a* in 7-day-old seedlings decreased. The chlorophylls *a+b*/carotenoids ratio increased under high temperature treatment (+40 °C, 2 h.) from 10.9 to 18.5. In 14-day-old seedlings a low temperature resulted in some rise of chlorophyll *a* content, the chlorophylls *a/b* ratio raised from 2.13 to 2.97 while the content of chlorophyll *b* and carotenoids diminished. Two isoforms of lipoxygenase: LO-1 (pH 7.0) and LO-2 (pH 6.0) were revealed in the seedling leaves, in roots — one 9-LO (pH 6.5). After high temperature and cross stress lipoxygenase activity increased both in the leaves and in the roots. After cooling 9-LO from roots some decrease of its activity was shown. The revealed changes in the pigment spectrum and lipoxygenase activity are regarded as components of adaptive response to changes in temperature regime. These results open the possibility to use the quantitative ratios of photosynthetic pigments and lipoxygenase activity as markers for selection for creating new high technology crop varieties.

Key words: *Triticum aestivum* L., lipoxygenase, pigments, temperature resistance.