

РИМАР Ю. Ю.✉, ПРОНІНА О. В., ДУПЛІЙ В. П., МОРГУН Б. В.

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,

Україна, 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 148, ORCID: 0000-0003-3051-3774, 0000-0002-7972-9296, 0000-0002-7479-7257, 0000-0001-7041-6894

✉ yulia-r@i.ua

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЇ ПРОДИХОВОГО АПАРАТУ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ

Мета. Знайти та охарактеризувати відмінні селекційні лінії та сорти пшениці м'якої за морфологічними ознаками продихового апарату для подальшого вивчення генетичних закономірностей біогенезу продихів. **Методи.** Оцінку продихового апарату проводили методом відбитків із середини адаксіальної та абаксіальної сторони прапорцевого листка. Плівки з відбитками вивчали під світловим мікроскопом під 100–200 кратним загальним збільшенням, виміряли довжину та ширину замикаючої клітини, продихової щілини, кількість продихів та провели статистичну обробку даних. **Результати.** Зроблено оцінку морфології продихового апарату для трьох сортів пшениці м'якої, характерних для України, та трьох селекційних форм з Північної Америки, які відрізняються за морфологічними параметрами. Селекційна лінія «Короткоостиста» вирізняється за кількістю продихів на адаксіальній поверхні листка, «Карликова» характеризується зростанням сумарної площі продихових щілин на одиницю площі листової пластинки на адаксіальній стороні, а «Остиста, короткостеблова» має менший показник на абаксіальній стороні й одночасно демонструє зниження сумарної площі продихів абаксіальної поверхні листка. **Висновки.** Вдалося знайти морфологічно суттєво відмінні лінії за параметрами продихового апарату, що є надзвичайно цінним дослідним матеріалом для поглибленого молекулярно-генетичного вивчення біогенезу продихів пшениці.

Ключові слова: продихи, замикаючі клітини, морфологія, щільність продихів, *Triticum aestivum*.

Пшениця – найважливіша сільськогосподарська культура, яку людина вирощує та споживає у вигляді різних харчових продуктів тисячоліттями. Саме пшениця займає найбільші посівні площі у світі [1]. Але через глобальну зміну клімату, що призводить до небажаного зростання середньодобової температури повітря

та посухи, знижується врожайність цієї важливої культури [2].

Вивчення динаміки врожайності протягом десятиліть показало, що підвищення температур безпосередньо впливає на вегетаційний період рослин, а рекордні температури повітря в червні є вагомим фактором падіння врожайності пшениці [3]. Також виявлено, що саме зволоженість ґрунту має більший вплив на продуктивність і родючість злакових, ніж температурний режим [4]. Зі свого боку підвищення температури призводить до ґрунтової посухи та недостатньої зволоженості. Тому більш детальне вивчення різних аспектів, що формують таку комплексну ознаку як посухотолерантність є важливим і необхідним рішенням для збереження та підвищення продуктивності хлібних злаків. У цьому розумінні неминуче потрібно звернути увагу на такі листові структури як продихи. Продихи хоч і займають всього близько 5 % від усієї поверхні листової пластини, проте через їх клітинні структури випаровується близько 70 % води від загальної витрати рослиною [5].

Очевидно, що маніпулювання щільністю продихів на поверхні листка й ефективністю транспірації, є вагомими селективними факторами для створення нових сортів посухотолерантних рослин [6, 7]. У результаті регулювання генів продихового апарату вже були отримані більш витривалі до посухи рослини ячменю при тому, як зазначають автори, без втрати врожайності [4]. Схожі дослідження проведені на пшениці демонструють, що помірне зниження кількості продихів має позитивний ефект на ріст рослин в умовах водного дефіциту, які в контрольованих тепличних умовах вирощування зберігали врожайність [5].

Дослідження особливостей морфології продихового апарату в різних сортах пшениці м'якої розширить характеристики сортів за цією ознакою. Пошук фенотипово відмінних форм допоможе з відбором селекційного матеріалу та послугує підґрунтям для визначення ролі генетичних детермінантів у формуванні продихів.

© РИМАР Ю. Ю., ПРОНІНА О. В., ДУПЛІЙ В. П., МОРГУН Б. В.

Таким чином, для нашої роботи відібрано різні за фізіологічними ознаками та походженням зразки пшениці м'якої озимої, в яких передбачається оцінити відмінності морфології продихів. Тому, метою роботи було дослідити й охарактеризувати відмінні селекційні лінії та сорти пшениці м'якої за морфологічними ознаками продихового апарату. Відмінні морфотипи будуть необхідними для подальшого вивчення генетичних закономірностей біогенезу продихів.

Матеріали і методи

Для оцінки продихового апарату озимої м'якої пшениці використовували 3 сорти (Подільська, Зимоярка, Богдана), внесені до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні, та 3 селекційні лінії, що походять з Північної Америки (з колекції цінних зразків озимої пшениці Інституту фізіології рослин і генетики НАН України), які відрізняються за морфологічними властивостями рослин. Їх номенклатуру наведено в таблиці 1.

Рослини вирощували у польових умовах Київської області (сmt Глеваха) за традиційною технологією. Зразки відбирали на стадії ВВСН-код 55-73. Оцінку продихового апарату проводили методом відбитків із середини адаксіальної та абаксіальної сторони прапорцевого листка [6]. Плівки з відбитками вивчали під світловим мікроскопом Carl Zeiss Jena Amplival під 100–200 кратним загальним збільшенням та фотографували за допомогою фотокамери для мікроскопа Sigeta M3CMOS 16000. Вимірювання проводили у 25-кратній повторності за допомогою програми ImageJ (Media Cybernetics).

Для оцінки розмірів продихів вимірювали довжину та ширину продихової щілини при 200x збільшенні мікроскопа та визначали її площу перемножуючи отримані дані. Так отримували параметри продихової клітини [7]. Кількість продихів на одиницю площі підраховували

при 100x збільшенні мікроскопа. Сумарну площу продихових щілин на одиниці площі листка визначали за допомогою множення середньої площі продихових щілин на середню кількість продихів на одиниці площі листка. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel 2007. Порівняння отриманих даних проводили з використанням коефіцієнта Стюдента (для порівняння двох вибірок) або методом ANOVA з подальшим використанням тесту Тьюкі [8].

Результати та обговорення

У результаті обрахунків параметрів продихів виявлено, що довжина продихової щілини коливалася від $30,2 \pm 2,2$ мкм (для «Короткооцистої») до $36,9 \pm 5$ мкм для Зимоярки на адаксіальній поверхні та від $27,8 \pm 2,6$ мкм (для «Карликової») до $35,3 \pm 3,6$ мкм для Зимоярки на абаксіальній стороні. Розмір продихової щілини при цьому був від $2,8 \pm 0,5$ мкм у Подільської до $3,8 \pm 0,5$ мкм (у «Карликової») та $3,0 \pm 0,5$ мкм у Подільської й $4,0 \pm 0,7$ мкм у «Короткооцистої» пшениці на відповідних сторонах листків.

Довжина замикаючої клітини на адаксіальній поверхні була максимальною у сорту Богдана і мінімальною у «Короткооцистої» пшениці. На абаксіальній стороні найбільший показник було визначено у Зимоярки, а найменші були у сорту Богдана та селекційних ліній «Карликова» та «Короткооциста». Розміри продихової щілини та замикаючої клітини для продихів досліджуваних сортів наведено в таблиці 2, де зазначено середнє та стандартне відхилення для порохованих показників.

Надалі отримані показники порівнювали за допомогою статистичного тесту ANOVA. Для всіх показників були побудовані діаграми розсіювання. Для досліджуваних зразків пшениці м'якої достовірної різниці за розмірами продихової щілини та замикаючої клітини не виявлено.

Таблиця 1. Позначення / номенклатура залучених до роботи / використаних сортів та селекційних ліній пшениці м'якої озимої

№ п/ч	Польовий номер ІФРГ НАН України, 2022 р.	Назва сорту / селекційної лінії	Місце походження
1	3162	сорт Богдана	Україна
2	3163	сорт Подільська	Україна
3	3164	сорт Зимоярка	Україна
4	3214	лінія Карликова*	Північна Америка
5	3215	лінія Остиста, короткостеблова*	Північна Америка
6	3216	лінія Короткооциста*	Північна Америка

Примітка. * – селекційні форми з Колекції цінних зразків озимої пшениці ІФРГ НАН України.

Таблиця 2. Характеристика морфології продихового апарату використаних сортів озимої пшениці

Сорт / Лінія	Довжина продихової щілини, мкм	Ширина продихової щілини, мкм	Площа продихової щілини, мкм ²	Довжина замикаючої клітини, мкм	Ширина замикаючої клітини, мкм	Площа замикаючої клітини, мкм ²
Адаксіальна поверхня						
Богдана	35,9±4,2	2,9±0,5	108,6±21,2	53,1±4,0	4,3±0,4	226,8±28,8
Подольнка	32,6±3	2,8±0,5	92,5±16,7	49,0±3,0	3,9±0,7	189,7±37,3
Зимоярка	36,9±5	3,0±0,4	113,3±20,9	52,5±5,5	4,2±0,7	219,9±42,6
Карликова*	35,3±3,6	3,8±0,5	134,2±22,2	50,2±3,4	4,7±0,7	234,6±40,7
Остиста, короткостеблова*	31,4±2,9	3,2±0,5	103,7±17,0	47,8±3,1	4,9±0,7	232,6±33,6
Короткоостиста*	30,2±2,2	2,9±0,5	84,3±17,2	45,6±2,4	4,7±0,9	213,0±42,3
Абаксіальна поверхня						
Богдана	27,8±3	3,1±0,4	87,6±13,7	45,4±7,8	4,5±0,8	203,3±46,0
Подольнка	30,7±2,8	3,0±0,5	93,7±18,6	49,6±3,4	4,4±0,8	218,5±44,0
Зимоярка	35,3±3,6	3,1±0,4	111,4±17,6	52,3±4,0	4,4±0,8	228,5±51,5
Карликова*	27,8±2,6	3,5±0,6	96,7±16,2	45,5±3,3	5,0±0,8	228,7±36,7
Остиста, короткостеблова*	29,6±3,3	3,1±0,5	90,8±13,4	46,7±3,0	4,1±0,5	194,0±32,3
Короткоостиста*	30,2±2,2	4,0±0,7	121,7±21,4	45,6±2,4	4,7±0,9	213,0±42,3

Примітка. * – селекційні форми з Колекції цінних зразків озимої пшениці ІФРГ НАН України.

Кількість продихів на квадратний міліметр площі листка на адаксіальній поверхні перевищує цей показник для абаксіальної поверхні для всіх досліджуваних генотипів. За кількістю продихів на квадратний міліметр площі листка пшениці на абаксіальній поверхні достовірної різниці виявлено не було, а для адаксіальної поверхні статистично значущим є зростання цього показника для селекційної лінії «Короткоостиста». Також, у порівнянні до інших селекційних форм, значуще знижується кількість продихів на адаксіальній стороні в «Остистої, короткостебельної» пшениці. Описані вище дані за кількістю продихів на квадратний міліметр площі листка зображено на рисунку 1.

Для інтегральної оцінки морфологічних ознак продихового апарату порівнюваних сортів та селекційних форм пшениць було запропоновано використати показник сумарної площі продихових щілин на одиницю площі листка. Отримані дані порівняно на рисунку 2.

Як показано на рис. 2 за показником сумарної площі продихових щілин на одиницю площі листка на абаксіальній поверхні достовірної різниці виявлено не було. Варто зазначити, що для селекційної форми «Остиста, короткостеблова» виявлена тенденція до зниження визначеного показника.

Для адаксіальної поверхні характерним є значна міра розсіяння значень отриманого показника, при цьому статистично значущим є зростання сумарної площі продихових щілин на одиницю площі листка для селекційної форми «Карликова». При цьому знову відмічаємо тенденцію до зниження визначеного показника для селекційної форми «Остиста, короткостеблова».

Отже, для досліджуваних сортів пшениці м'якої, що широко поширені в Україні (Подольнка, Зимоярка, Богдана) та трьох селекційних ліній, що походять з Північної Америки, які відрізняються за морфо-біологічними особливостями, достовірної різниці за розмірами продихової щілини та замикаючих клітин виявлено не було. Також не виявлено достовірної різниці за кількістю продихів на квадратний міліметр площі листка пшениці на абаксіальній поверхні.

Разом з тим, для адаксіальної поверхні статистично значущим є зростання цього показника для селекційної лінії «Короткоостиста». При цьому кількість продихів на квадратний міліметр площі листка на адаксіальній поверхні перевищує цей показник для абаксіальної поверхні для всіх досліджуваних сортів та ліній.

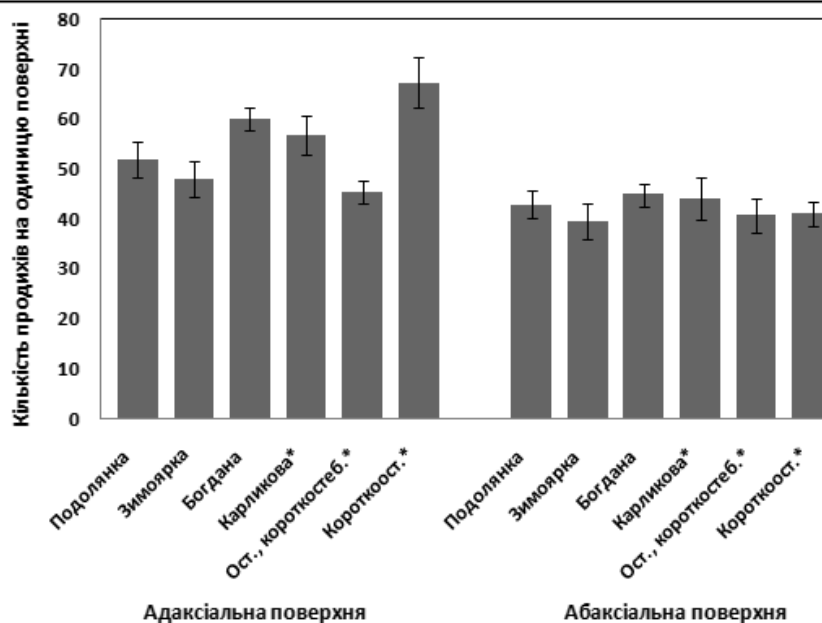


Рис. 1. Діаграма кількості продихів на квадратний міліметр листкової пластини для сортів та селекційних ліній пшениці м'якої.

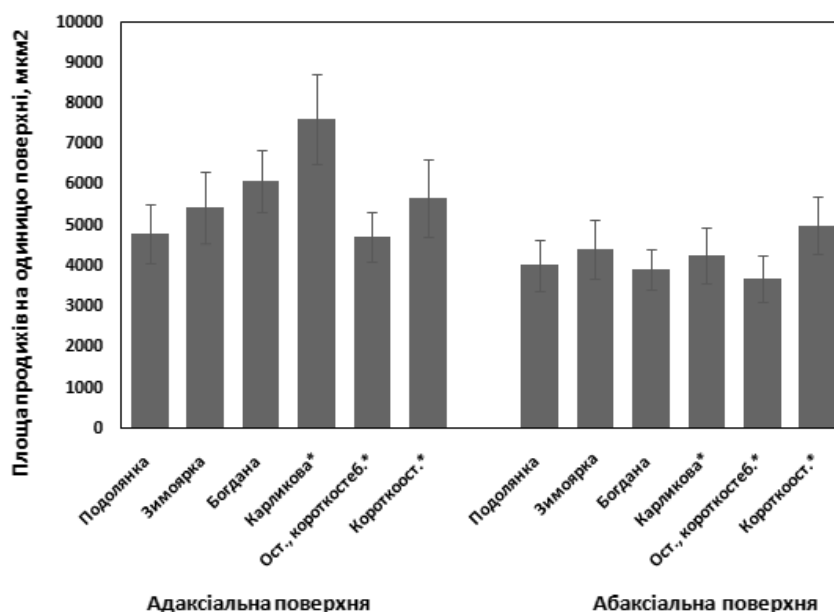


Рис. 2. Діаграма величин сумарної площі продихових щілин на квадратний міліметр листка для сортів та селекційних ліній пшениці м'якої.

За іншим показником, сумарної площі продихових щілин на одиницю площі листка, на абаксіальній поверхні достовірної різниці виявлено не було, а от для адаксіальної поверхні статистично значущим є зростання цього показника для селекційної лінії «Карликова».

Висновки

У результаті виконаної роботи встановлено, що три досліджені селекційних лінії, які

походять з Північної Америки («Карликова», «Остиста, короткостеблова» та «Короткоостиста»), суттєво відрізняються за одним з параметрів продихового апарату. Селекційна лінія «Короткоостиста» відрізняється за кількістю продихів на адаксіальній поверхні листка, «Карликова» характеризується зростанням сумарної площі продихових щілин на одиницю площі листкової пластинки на адаксіальній стороні, а форма «Остиста, короткостеблова» має менший

показник на абаксіальній стороні й одночасно проявляє тенденцію до зниження сумарної площі продихів абаксіальної поверхні листка. Нам вдалося знайти морфологічно відмінні генотипи за параметрами продихового апарату, що є надзвичайно цінним дослідним матеріалом для по-

глибленого молекулярно-генетичного вивчення біогенезу продихів пшениці.

Висловлюємо вдячність ІФРГ НАН України за наданий рослинний матеріал. Робота фінансувалася в рамках відомчої тематики НАН України, держреєстраційний № 0123U100462.

References

1. Morhun V. V., Sanin Ye. V., Schwartau V. V. Klub 100 tsentneriv. Suchasni sorty ta systemy zhyvlennia i zakhystu ozymoi pshenytsi. 8-me vyd. Kyiv : Lohos, 2014. 150 s. [in Ukrainian]
2. Ren S., Qin Q., Ren H. Contrasting wheat phenological responses to climate change in global scale. *Science of the Total Environment*. 2019. Vol. 665. P. 620–631. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.01.394.
3. Morgounov A., Sonder K., Abugaliyeva A., Bhadauria V., Cuthbert R. D., Shamanin V., Zelenskiy Yu., DePauw R. M. Effect of climate change on spring wheat yields in North America and Eurasia in 1981-2015 and implications for breeding. *PLOS ONE*. 2018. Vol. 13, No. 10. P.e0204932. doi: 10.1371/journal.pone.0204932.
4. Hatfield J. L., Dold C. Agroclimatology and wheat production: coping with climate change. *Frontiers in Plant Science*. 2018. Vol. 9. doi: 10.3389/fpls.2018.00224.
5. Hetherington A. M., Woodward F. I. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*. 2003. Vol. 424, No. 6951. P. 901–908. doi: 10.1038/nature01843.
6. Hepworth C., Doheny-Adams T., Hunt L., Cameron D. D., Gray J. E. Manipulating stomatal density enhances drought tolerance without deleterious effect on nutrient uptake. *New Phytologist*. 2015. Vol. 208, No. 2. P. 336–341. doi: 10.1111/nph.13598.
7. Franks P. J., Doheny-Adams T. W., Britton-Harper Z. J., Gray J. E. Increasing water-use efficiency directly through genetic manipulation of stomatal density. *New Phytologist*. 2015. Vol. 207, No. 1. P. 188–195. doi: 10.1111/nph.13347.
8. Ramsey F. Statistical sleuth: A course in methods of data analysis. Boston : Brand: Brooks/Cole, 2013. 760 p.
9. Hughes J., Hepworth C., Dutton C., Dunn J. A., Hunt L., Stephens J., Waugh R., Cameron D. D., Gray J. E. Reducing stomatal density in barley improves drought tolerance without impacting on yield. *Plant Physiology*. 2017. Vol. 174, No. 2. P. 776–787. doi: 10.1104/pp.16.01844.
10. Dunn J., Hunt L., Afsharinafar M., Meselmani M. A., Mitchell A., Howells R., Wallington E., Fleming A. J., Gray J. E. Reduced stomatal density in bread wheat leads to increased water-use efficiency. *Journal of Experimental Botany*. 2019. Vol. 70, No. 18. P. 4737–4748. doi: 10.1093/jxb/erz248.
11. Gitz III D. C., Baker J. T., Echevarria-Laza H., Payton P., Mahan J. R., Lascano R. J. CO₂ and chamber effects on epidermal development in field-grown peanut (*Arachis hypogaea* L.). *American Journal of Plant Sciences*. 2017. Vol. 8, No. 3. P. 349–362. doi: 10.4236/ajps.2017.83025.
12. Caine R. S., Chater C. C., Kamisugi Y., Cuming A. C., Beerling D. J., Gray J. E., Fleming A. J. An ancestral stomatal patterning module revealed in the non-vascular land plant *Physcomitrella patens*. *Development*. 2016. Vol. 143, No. 18. P. 3306–3314. doi: 10.1242/dev.135038.

RYMAR Yu. Yu., PRONINA O. V., MORGUN B. V., DUPLIJ V. P.

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, 03143, Kyiv, Akademika Zabolotnoho str., 148

PECULIARITIES OF STOMATA MORPHOLOGY IN BREAD WHEAT

Aim. The aim was to find and characterize different breeding lines and varieties of bread wheat according to morphological features of the stomatal apparatus for further study of the genetic patterns of stomatal biogenesis. **Methods.** The stomatal apparatus was evaluated by the method of impressions from the middle of the adaxial and abaxial sides of the flag leaf. Films with prints were studied with a light microscope under 100–200 total magnification. The length and width of the guard cell, stomatal pore, and number of stomata were measured, and statistical data processing was carried out. **Results.** An evaluation of stomata morphology was made for three varieties of bread wheat, which are characteristic of Ukraine, and three breeding lines originating from the Northern America, which differ in morphological features. The breeding line «Short-awn» had the different number of stomata on the adaxial side of the leaf, the «Dwarf» showed the increase in the total area of stomata per area unit of leaf on the adaxial side and the «Spiky, short-stem» line had a lower value of this parameter on the abaxial side and at the same time tended to decrease the total area of stomata on the abaxial side of the leaf. **Conclusions.** It was succeeded to find morphologically distinct lines according to the features of the stomata. The lines are valuable starting material for successive molecular genetic research of the biogenesis of wheat stomata.

Keywords: stomata, *Triticum aestivum*, stomatal density, guard cells, morphology.