

УДК 632.11:633.11

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ОБРАЗЦОВ ПШЕНИЦЫ К СТАРЕНИЮ, ЗАСУХЕ И ЗАСОЛЕНИЮ

Мамедова С.А., Ибрагимова З.Ш., Алиев Р.Т.

Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана, Баку, e-mail: smamedova2002@mail.ru

Цель работы заключалась в сравнительной оценке устойчивости образцов пшеницы к различным стресс-факторам по показателям жизнеспособности семян и по содержанию гетероциклической аминокислоты пролин (пирролидин- α -карбоновая кислота) в листьях различных разновидностей мягкой пшеницы. Стресс-факторами являлись ускоренное старение семян (3-дневная инкубация семян при повышенной относительной влажности (95%) и температуре воздуха (40°C)), обезвоживание (содержание в растворе сахараозы в концентрации 10,5 атм в течение 24 часов), засоление (содержание в растворе NaCl 10 атм в течение 24 часов) проростков. Значительное увеличение содержания пролина относительно контроля в условиях состаривания, засухи и засоления происходило у тех форм, где в контрольных вариантах отмечалось достаточно низкое содержание этой аминокислоты. Сравнительная оценка устойчивости семян изученных образцов мягкой пшеницы к старению и ответной реакции растений на воздействие засухи и засоления позволила сделать выводы, что по показателям всхожести семян после ускоренного старения и по содержанию пролина в листьях растений образец пшеницы K-31 *T. aestivum* L. v. *erythrosperrum* Körn. проявил большую устойчивость по сравнению с остальными изученными образцами. В ряду исследованных образцов наименее устойчивым оказался образец K-72 *T. aestivum* L. v. *cainotrics* Körn.

Ключевые слова: пшеница, стресс, семена, листья, всхожесть, пролин

ESTIMATION OF RESISTANCE OF THE DIFFERENT WHEAT VARIETIES TO AGING, DROUGHT AND SALINITY

Mamedova S.A., Ibragimova Z.Sh., Aliev R.T.

Institute of Genetic Resources of ANAS, Baku, e-mail: smamedova2002@mail.ru

The aim of the work was to comparatively assess the resistance of wheat samples to various stress factors in terms of seed viability and the content of the heterocyclic amino acid proline (pyrrolidine- α -carboxylic acid) in the leaves of different varieties of soft wheat. Stress factors were accelerated aging of seeds (3-day incubation of seeds at elevated relative humidity (95%) and air temperature (40°C)), dehydration of seedlings (content in sucrose solution at a concentration of 10.5 atm within 24 hours), salinity of seedlings (content in a solution of NaCl at a concentration of 10 atm for 24 hours). A significant increase in the content of proline relative to the control in conditions of aging, drought, and salinization occurred in those forms where a relatively low content of this amino acid was observed in the control variants. A comparative assessment of the resistance of the studied wheat samples seeds to aging and the response of plants to the effects of drought and salinity showed that, in terms of seed germination after accelerated aging and the content of proline in the leaves of plants, the K-31 *T. aestivum* L. v. *erythrosperrum* Körn. wheat showed greater stability compared to the other studied samples. The least stable was the K-72 *T. aestivum* L. v. *cainotrics* Körn. sample.

Keywords: wheat, stress, seeds, leaves, germination, proline

Потребность в устойчивых и адаптированных сортах растений для включения их в селекционные программы предопределила необходимость изучения ответных реакций растений на воздействие неблагоприятных условий среды у разных видов и сортов растений. Адаптивный характер реакции растения на стресс сопровождается повышением или понижением содержания тех или иных компонентов клетки, а также развитием любого признака, который способствует выживанию вида и его размножению.

Известно, что семена, которые лучше переносят неблагоприятные условия ускоренного старения, более устойчивы к абiotическим стрессорам при прорастании. Приводятся сведения о связи старения с нарушением физиологических и биохимических процессов [1; 2], с накоплением ингибиторов роста и токсичных продуктов метаболизма [3]. В основе повреждений,

приводящих к старению семян и снижению их стресс-устойчивости, лежит генерация свободных радикалов, которую инициирует автоокисление липидов и неферментативное гликозилирование [4]. Эти реакции не требуют высокого влагосодержания, и их продукты способны накапливаться в воздушно-сухих семенах, что приводит к окислительным повреждениям мембран, белков и ДНК. По современным представлениям некоторые аминокислоты, в том числе гетероциклическая аминокислота пролин, инициируют активацию адаптивных механизмов [5; 6]. Пролин уменьшает осмотический стресс, участвует в передаче сигнала стресса, регулирует окислительно-восстановительный потенциал клетки. В условиях стресса аккумуляция пролина индуцируется усилением его синтеза, а также восстановлением окисленных аминокислот. Значительная часть пролина, накапливающегося

в клетке во время стресса, синтезируется из глутамата в пероксисомах [5]. При едином мнении, что увеличение содержания пролина в растениях является общей физиологической реакцией на засуху, засоление и другие неблагоприятные воздействия, в литературе встречаются противоречивые сведения о зависимости устойчивости растений к стрессу от содержания пролина. Так, в работе С.И. Михальской и др. проанализирован уровень свободного L-пролина в побегах и корнях проростков кукурузы в условиях сульфатно-хлоридного засоления. Показано, что стресс-устойчивость сопровождается повышением содержания этого осмолита. Солеустойчивость трансформантов, содержащих двухцепочечный РНК-супрессор гена пролиндегидрогеназы кукурузы, сопровождался аккумуляцией свободного L-пролина [7]. В работе Y. Люо и др. более высокое содержание пролина наблюдалось у холодоустойчивого генотипа земляники по сравнению с неустойчивым [8]. А.В. Поморцев также отмечает более высокое содержание пролина у морозоустойчивых растений ржи и тритикале [9]. Сообщается, что существует положительная корреляция между содержанием пролина и устойчивостью к засухе у сортов риса и устойчивостью к засолению у растений табака и картофеля [10].

Согласно противоположной точке зрения, чем хуже растение переносит неблагоприятные условия, тем выше содержание пролина в его тканях [11]. Так, в работе А. Aghaee и др. [12] приводятся данные о более низком содержании пролина в стрессовых ситуациях у устойчивого генотипа риса. По данным J. Liu [13] у чувствительных к засолению и к холоду мутантов арабидопсиса отмечено более высокое содержание пролина. По утверждению А.Ф. Кириллова увеличение содержания пролина может служить в качестве количественной меры водного стресса [11].

Эта противоречивость может быть обусловлена как методическими причинами (различная доза и экспозиция стрессовых воздействий в различных экспериментах), так и сложным механизмом взаимодействия пролина с другими стресс-протекторами. Сравнительное исследование стрессового накопления пролина в различных органах растений, отличающихся по устойчивости видов и сортов необходимо как для разработки методологии оценки устойчивости растений, так и для более глубокого понимания стресс-протекторных функций пролина.

Цель исследования заключалась в сравнительной оценке устойчивости образцов мягкой пшеницы к различным стресс фак-

торам по показателям жизнеспособности семян и по содержанию гетероциклической аминокислоты пролин (пирролидин- α -карбоновая кислота) в листьях растений пшеницы.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования служили свежие семена 5 разновидностей мягкой пшеницы: YBFS017 K-31 *T. aestivum* L. v. *erythrospermum* Körn., YBFS 017 K-35 *T. aestivum* L. v. *erythroleucon* Körn., YBFS017 K-71 *T. aestivum* L. v. *murinum* Flaks., YBFS017 K-72 *T. aestivum* L. v. *caïnotrics* Körn., YBFS 017 K-75 *T. aestivum* L. v. *glaucolutescens* Vatr. Стресс-факторами являлись ускоренное старение семян, обезвоживание и засоление проростков. Для имитации продолжительности хранения семян применялся метод их искусственного состаривания. Этот метод предполагает 3-дневную инкубацию семян при повышенной относительной влажности и температуре воздуха [1], что позволяет моделировать воздействие неблагоприятных факторов и прогнозировать их влияние на устойчивость семян различных сортов и образцов растений. Оценка жизнеспособности проводилась по тесту лабораторной всхожести семян, выражаемой в процентах от общего числа (n):

$$G = \frac{A \times 100\%}{n},$$

где A – число взошедших семян.

При засухе (содержание проростков в растворе сахарозы (10,5 атм) в течение суток) и соевом стрессе (содержание проростков в растворе 10 атм NaCl (10 атм) в течение суток) анализировали динамику изменения содержания пролина в листьях растений по методу Bates [14]. Стрессовому воздействию подвергали 5-дневные проростки, выращенные в нормальных условиях. Для сравнительного анализа использовали 6-суточные проростки. Пробы отбирали и фиксировали в одно и то же время суток. Контролем служили растения, выращенные в нормальных условиях.

Результаты исследования и их обсуждение

Для оценки функциональных нарушений жизнеспособности семян при ускоренном старении нами использовался такой интегральный показатель, как их всхожесть (рис. 1). При оптимальных условиях прорастания всхожесть семян 5 разновидностей мягкой пшеницы варьировала в пределах 92,5–100,0%. Анализ всхожести подвергнутых ускоренному старению семян 5 разновидностей мягкой пшеницы показал, что 3-дневное состаривание подавляло прорастание семян различных образцов в разной степени. Так, при наблюдаемом резком падении (на 12,0–46,5%) всхожести семян у образцов K-71 – *T. aestivum* L. v. *murinum* Flaks., K-72 – *T. aestivum* L. v. *caïnotrics* Körn. и K – 75 *T. aestivum* L. v. *glaucolutescens* Vatr., для образцов K-31 – *T. aestivum* L. v. *erythrospermum* Körn., K-35 – *T. aestivum* L. v. *erythroleucon* Körn.

отмечено падение всхожести всего на 2,0%, что свидетельствует об их большей устойчивости к ускоренному старению. Наибольший процент потери всхожести семян (46,5%) был характерен для образца YBFS017 K-72 – *T. aestivum* L. v. *cainotrics* Körn.

На рис. 2 представлены результаты исследований по определению содержания пролина в побегах проростков, подвергнутых старению, засухе и засолению. Уровень этой аминокислоты у ряда изученных образцов варьировал, однако по абсолютной величине содержание пролина в проростках опытных растений превосходило показатели содержания пролина в проростках контрольных вариантов. Содержание пролина варьировало от 0,44 до 1,02 $\mu\text{M}/\text{мг}$ у растений контрольного варианта, где значение содержания пролина имело свой максимум у образца K-31 *T. aestivum* L. v. *erythrosperrum* Körn., а минимальное значение было отмечено у варианта опыта K-35 *T. aestivum* L. v. *erythroleucon* Körn.

Обнаружены значительные различия между образцами по содержанию пролина при стрессе. При ускоренном старении содержание пролина варьировало в пределах 0,72 и 1,77 $\mu\text{M}/\text{мг}$. Наибольшая кратность увеличения содержания пролина отмечена у образца K-72 *T. aestivum* L. v. *cainotrics* Körn., в 2 раза выше, чем в контрольном варианте. Относительно контроля в 1,16 раз увеличилось содержание пролина у образца K-31 *T. aestivum* L. v. *erythrosperrum* Körn. По мнению Ж.Н. Калацкой и др., так как уровень пролина возрастает пропорционально увеличению степени и продолжительности воздействия неблагоприятных условий хранения, предполагается, что его

накопление в проростках свидетельствует скорее о степени воздействия повреждающего фактора, а не о проявлении устойчивости к нему [15]. Однако в наших опытах наблюдалось различное накопление пролина в ответ на одинаковое для всех образцов стрессовое воздействие. Что, опираясь на дополнительные результаты по всхожести семян при ускоренном старении, позволяет нам сделать выводы о детерминированности устойчивости различных генотипов растений.

При засухе диапазон изменения содержания пролина варьировал между 0,713 и 2,85 $\mu\text{M}/\text{мг}$. Отмечено многократное увеличение содержания пролина при засухе относительно контроля в листьях образца K-72 *T. aestivum* L. v. *cainotrics* Körn. (в 4,45 раза). Наименьшее изменение содержания пролина относительно контроля наблюдали у разновидности мягкой пшеницы K-71 *T. aestivum* L. v. *murinum* Flaks. (в 1,2 раза).

При засолении содержание пролина менялось в пределах 0,931–1,653 $\mu\text{M}/\text{мг}$. Наибольшее значение содержания пролина наблюдалось у растений образца K-71 *T. aestivum* L. v. *murinum* Flaks., что превышало значение контроля в 1,9 раз, наименьшее у образца K-35 *T. aestivum* L. v. *erythroleucon* Körn., превышение относительно контроля в 2,1 раза. Представляет интерес образец K-72 *T. aestivum* L. v. *cainotrics* Körn., у которого содержание пролина превышало значение контрольного варианта в 2,2 раза. Наименьшая кратность превышения содержания пролина относительно контроля была у образца K-31 *T. aestivum* L. v. *erythrosperrum* Körn. – 1,34 раза.

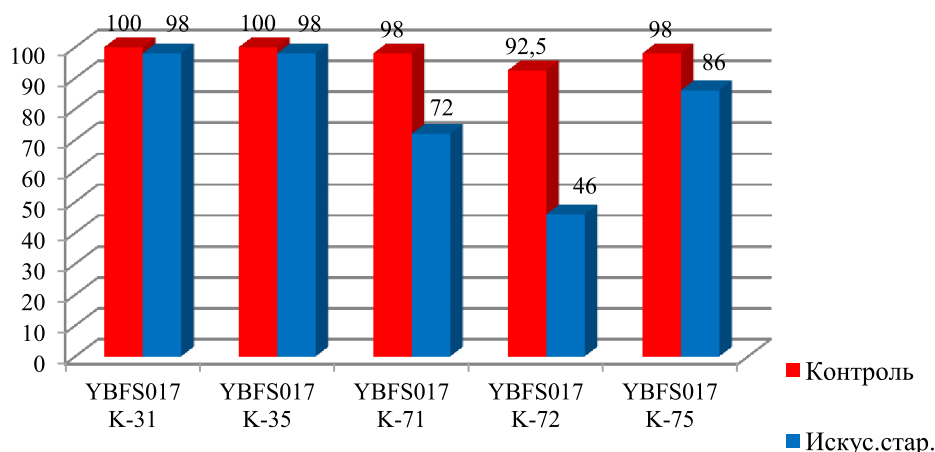


Рис. 1. Всхожесть искусственно состаренных семян различных образцов мягкой пшеницы (YBFS 017 K-31 – *T. aestivum* L. v. *erythrosperrum* Körn., YBFS 017 K-35 – *T. aestivum* L. v. *erythroleucon* Körn., YBFS 017 K-71 – *T. aestivum* L. v. *murinum* Flaks., YBFS 017 K-72 – *T. aestivum* L. v. *cainotrics* Körn., YBFS 017 K-75 – *T. aestivum* L. v. *glaucolutescens* Vatr.)

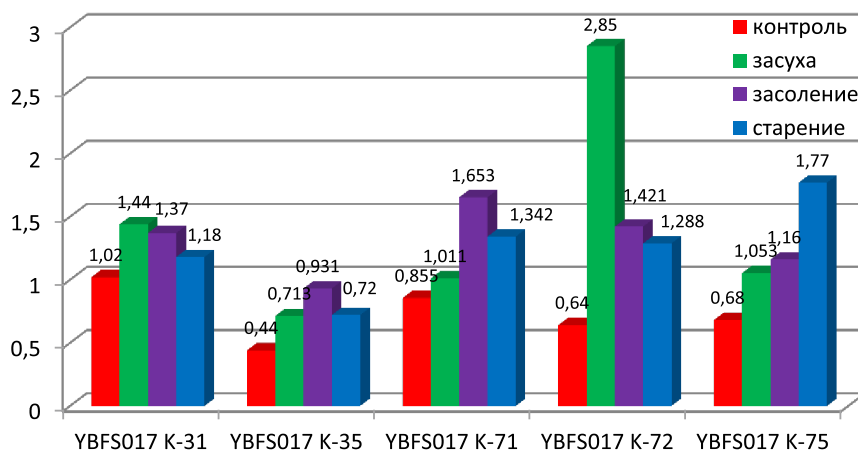


Рис. 2. Содержание пролина у образцов мягкой пшеницы в условиях засухи, засоления и старения ($\mu\text{M/g}$) (YBFS017 K-31 – *T. aestivum* L. v. *erythrospermum* Körn., YBFS 017 K-35 – *T. aestivum* L. v. *erythroleucon* Körn., YBFS017 K-71 – *T. aestivum* L. v. *murinum* Flaks., YBFS017 K-72 – *T. aestivum* L. v. *cainotrics* Körn., YBFS 017 K-75 – *T. aestivum* L. v. *Glaucolutescens* Vatr.)

Интересно, что значительное увеличение содержания пролина в условиях составления, засухи и засоления относительно контроля происходило у тех форм, где в контрольных вариантах содержание этой аминокислоты достаточно низкое. В нашем эксперименте таковыми являлись образцы K-35 *T. aestivum* L. v. *erythroleucon* Körn., K-72 *T. aestivum* L. v. *cainotrics* Körn. и K-75 *T. aestivum* L. v. *glaucolutescens* Vatr., где значения содержания пролина у контрольных растений составляли, соответственно 0,44 $\mu\text{M/mg}$, 0,64 $\mu\text{M/mg}$, 0,68 $\mu\text{M/mg}$.

Заключение

Сравнительная оценка устойчивости семян изученных 5 разновидностей мягкой пшеницы к старению и ответной реакции растений на воздействие засухи и засоления позволила сделать выводы, что по показателям всхожести семян после ускоренного старения и по содержанию пролина в листьях после стрессового воздействия, образец K-31 *T. aestivum* L. v. *erythrospermum* Körn. проявил большую устойчивость как к засухе и к засолению, так и к ускоренному старению по сравнению с остальными изученными образцами. В ряду исследованных образцов наименее устойчивым оказался образец K-72 *T. aestivum* L. v. *cainotrics* Körn.

Список литературы

1. Смоликова Г.Н. Применение метода ускоренного старения для оценки устойчивости семян к стрессовым воздействиям // Вестник СПбГУ. 2014. Сер. 3. Вып. 2. С. 82–93.
2. Банкин М.П., Пожванов Г.А., Дубовская А.Г., Гаврилова В.А., Билова Т.Е., Фролов А.А., Медведев С.С., Смоликова Г.Н. Сравнительный анализ биохимических изменений в семенах *Brassica napus* L. при длительном хранении и ускоренном старении с использованием метаболомного подхода // Вавиловская международная конференция, (Санкт-Петербург, 20–24 ноября 2017 г.). Санкт-Петербург, 2017. С. 173.

3. Веселова Т.В. Изменение состояния семян при их хранении, проращивании и под действием внешних факторов (ионизирующего излучения в малых дозах и других слабых воздействий), определяемое методом замедленной люминесценции: автореф. дис. ... докт. биол. наук. Москва, 2008. 48 с.
4. Веселова Т.В., Веселовский В.А., Леонова Е.А. Что означает изменение гетерогенности популяции семян при ускоренном старении // Физиология растений. 1999. Т. 46. С. 2477–2483.
5. Шевякова Н.И., Бакулина Е.А., Кузнецов В. В. Антиоксидантная роль пролина у галофита хрустальной травки при действии засоления и параквата, инициирующих окислительный стресс // Физиология растений. 2009. Т. 56. № 5. С. 736–742.
6. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. М.: Абрис, 2011. 742 с.
7. Михальская С.И., Матвеева А.Ю., Сергеева Л.Е., Кочетов А.В., Тищенко Е.Н. Исследование содержания свободного пролина в растениях кукурузы, трансформированных in planta с использованием lba4404, несущего рb12e с двухцепочечным РНК-супрессором гена пролиндегидрогеназы // Известия Самарского научного центра Российской Академии Наук. 2013. Т. 15. № 3 (5). С. 1662–1665.
8. Luo Y., Tang H., Zhang Y. Production of reactive oxygen species and antioxidant metabolism about strawberry leaves to low temperatures. J. Agr. Sci. 2011. V. 3. P. 89–96. DOI:10.5539/jas.v3n2p89.
9. Поморцев А.В. Физиологические и биохимические процессы, определяющие зимостойкость озимых зерновых культур в условиях Восточной Сибири: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 2013. 22 с.
10. Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О. Проллин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях // Вестник Харьковского Национального аграрного университета. Серия биология. 2014. Вып. 2 (32). С. 6–22.
11. Кириллов А.Ф., Козымик Р.А., Даскалюк А.П., Кузнецова Н.А., Харчук О.А. Оценка содержания пролина в растениях сои при воздействии засухи и засоления // Доклады по экологическому почвоведению. 2013. № 1. Вып. 18. С. 194–201.
12. Aghaee A., Moradi F., Zare-Maivan H., Zarinkamar F., Pour Irandoost H., Sharifi P. Physiological responses of two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to chilling stress at seedling stage. Afr. J. Biotechnol. 2011. V. 10 (39). P. 7617–7621.
13. Liu J., Zhu J.K. Proline accumulation and salt stress induced gene expression in a salt hypersensitive mutant of *Arabidopsis*. Plant Physiol. 1997. V. 114. P. 591–596.
14. Bates L.S., Walden R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 1973. V. 39. P. 205–207.
15. Калацкая Ж.Н., Ламан Н.А., Филагова И.И., Фролова Т.В., Люшкевич В.А., Чубрик Н.И., Гончарик С.В. Влияние плазменно-радиоволновой обработки семян кукурузы и последующего их хранения в неблагоприятных условиях на физиолого-биохимические особенности проростков // Известия Национальной Академии Наук Беларуси. Серия биологических наук. 2018. Т. 63. № 1. С. 7–19.