

УДК 581.14:577.17

Кузнецова С.А.², Климачев Д.А.¹, Старикова В.Т.¹

¹Московский государственный областной университет

²Московский медицинский колледж № 2

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПРОЛИНА В УСЛОВИЯХ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ И ОБРАБОТКИ ФИТОГОРМОНАМИ

S. Kuznetsova², D. Klimachev¹, V. Starikova¹

¹Moscow State Regional University

²Moscow Medical College No. 2

CHANGE IN PROLINE CONTENT UNDER CONDITIONS OF CHLORIDE SALINITY AND PROCESSING BY PHYTOHORMONES

Аннотация. В условиях лабораторных исследований (почвенные культуры) изучалось влияние различных концентраций хлорида натрия и обработки 6-БАП и АБК на содержание пролина в листьях пшеницы в процессе вегетации. В вариантах с внесением хлорида натрия экспериментально показано увеличение уровня пролина. Содержание пролина рассматривается как один из факторов резистентности растений к неблагоприятным условиям среды.

Ключевые слова: пролин, хлоридное засоление, 6-БАП, АБК.

Abstract. We have studied under the laboratory (soil cultures) conditions the effect of different concentrations of sodium chloride and 6-BAP and ABA processing on the proline content in wheat leaves during the growing season. The introduction of sodium chloride has been experimentally shown to increase the level of proline. The proline content is considered as one of the factors of resistance of plants to adverse environmental conditions.

Key words: proline, chloride salinity, 6-BAP, ABA.

Выживание растения в условиях избыточного засоления в значительной степени зависит от способности клеток поддерживать ионный гомеостаз. Содержание ионов в цитоплазме определяется как барьерными функциями мембран, особенно плазмалеммы, так и скоростью выделения ионов в апопласт. Барьерная функция каждой мембраны зависит от ее проницаемости, определяемой ее структурой и работой транспортных систем. Поступающие при засолении в клетку ионы выводятся из цитозоля при помощи ионных насосов. Галофиты по сравнению с гликофитами поддерживают концентрацию ионов натрия в цитоплазме постоянной. У соленакапливающих галофитов при наличии крупной центральной вакуоли транспортные белки тонопласта переносят ионы натрия и хлора в вакуоль [1].

Для восстановления внутриклеточного осмотического равновесия необходима активная аккумуляция в цитозоле совместимых осмолитов [3].

Совместимые осмолиты — это сахара, сахароспирты, свободные аминокислоты и некоторые другие органические соединения, которые в больших концентрациях не токсичны для клеточного метаболизма. Более того, они не только понижают водный потенциал клеток при солевом стрессе, но и защищают мембраны, ферменты, структурные и регуляторные макромолекулы.

Одной из универсальных защитных реакций растений при действии различных экстремальных факторов является аккумуляция пролина [5].

Объект и методы исследования

Исследования проводили в условиях вегетационных (почвенные культуры) опытов на яровой пшенице (*Triticum aestivum* L., сорта МИС, Приокская). NaCl вносили в виде раствора с поливными водами в фазу трех листьев. Опрыскивание раствором 6-БАП (4×10^{-5} М) и АБК (1×10^{-5} М) проводили в фазу кущения (III этап органогенеза). Концентрации вносимых гормонов и NaCl устанавливали путем подбора с учетом особенностей выбранного объекта. Контрольные растения опрыскивали водой. Определение содержания пролина проводили по модифицированному методу, предложенному Калинкиной Л.Г. Повторность опыта трехкратная. Экспериментальные данные обрабатывались статистически [2]: приведены средние арифметические и их среднеквадратичные ошибки. При оценке различий между вариантами использовали критерий Стьюдента, считая достоверными различия при уровне доверительной вероятности выше 0,95.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследований показали, что опрыскивание 6-БАП растений контрольного варианта снижает уровень пролина в листьях пшеницы на протяжении всего онтогенеза, но в первую очередь после обработки (фазу кущения) (рис. 1-2). Важно, что действие 6-БАП проявилось и на реакции сортов. Согласно полученным данным, сорт МИС характеризовался большей чувствительностью к обработке 6-БАП по сравнению с сортом Приокская (табл. 1-2). Так, в фазу кущения у сорта МИС уровень пролина при обработке 6-БАП снизился на 30%, тогда как у сорта Приокская – на 20%. Влияние 6-БАП на уровень пролина в листьях пшеницы, возможно, осуществляется через изменение уровня эндогенной АБК. В литературе имеются данные о воздействии экзогенных цитокининов на содержание пролина [6].

В условиях засоления NaCl обработка 6-БАП оказала сходное с вариантом без внесения NaCl воздействие на содержание про-

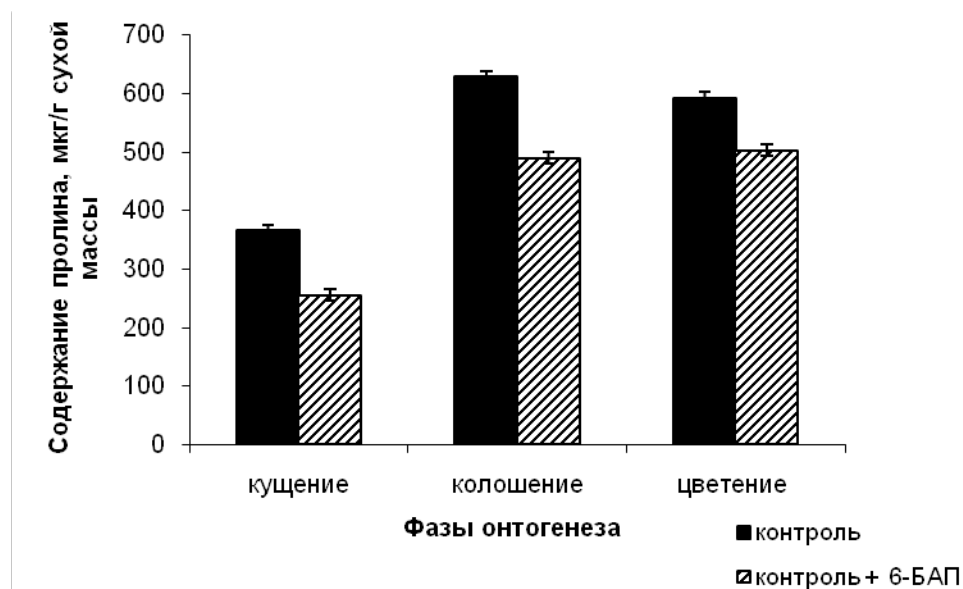


Рис. 1. Влияние обработки 6-БАП на накопление пролина в листьях. Контрольный вариант. Сорт МИС, мкг/г сухой массы

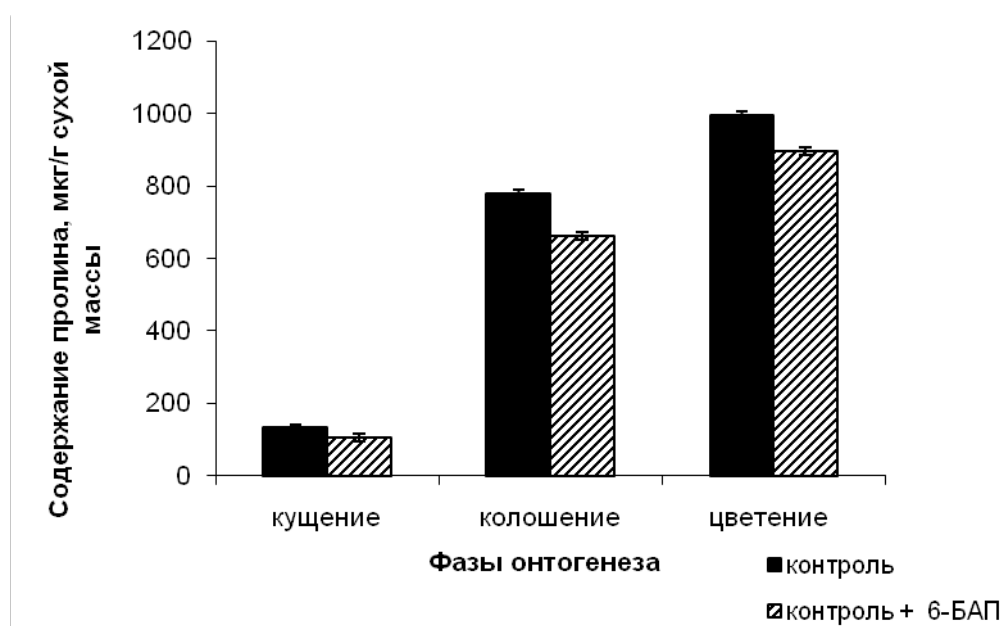


Рис. 2. Влияние обработки 6-БАП на накопление пролина в листьях. Контрольный вариант. Сорт Приокская, $\frac{\text{мкг}}{\text{г сухой массы}}$

лина. Результаты наших исследований показали снижение уровня пролина во всех вариантах (табл. 1-2). Действие 6-БАП проявилось в меньшей степени при высокой (253 мМ) концентрации NaCl. Так, у сорта МИС в фазу кущения при обработке 6-БАП на фоне

засоления NaCl (концентрация 213 мМ) уровень пролина снизился на 20%, тогда как при концентрации 253 мМ NaCl – на 13%. Важно отметить, что оба сорта проявили сходную реакцию на обработку 6-БАП (табл. 1-2).

Таблица 1

Влияние обработки 6-БАП и различного уровня засоления NaCl на содержание пролина в листьях пшеницы в процессе вегетации. Сорт МИС, $\frac{\text{мкг}}{\text{г сухой массы}}$

Вариант	кущение			колошение			цветение		
		%	%		%	%		%	%
контроль	365,49± 7,12	100		628,21± 7,19	100		592,31± 9,15	100	
контроль + 6-БАП	255,11± 5,35	70		489,84± 6,23	78		503,24± 7,84	85	
213мМ NaCl	562,95± 10,14	154	100	847,84± 5,35	135	100	713,53± 7,18	120	100
213мМ NaCl + 6-БАП	449,61± 8,15	123	80	719,95± 5,24	114	85	663,01 ±7,19	112	93
253мМ NaCl	584,12± 7,85	160	100	910,65± 8,46	145	100	828,81± 7,45	140	100
253мМ NaCl + 6-БАП	508,08± 6,24	139	87	846,85± 8,16	134	93	795,64± 8,13	134	96

Таблица 2

Влияние обработки 6-БАП и различного уровня засоления NaCl на содержание пролина в листьях пшеницы в процессе вегетации. Сорт Приокская, $\text{мкг}/\text{г}$ сухой массы

Вариант	кущение		колошение			цветение			
		%	%		%	%		%	%
контроль	132,61± 7,48	100		779,04± 15,10	100		995,96± 11,13	100	
контроль + 6-БАП	105,64± 8,89	80		662,18± 15,87	85		895,51± 8,94	90	
213мМ NaCl	200,11± 7,89	167	100	1128,96± 15,23	145	100	1292,98± 4,65	130	100
213мМ NaCl + 6-БАП	176,74± 8,12	133	88	1039,18± 6,18	133	92	1228,82± 6,78	124	95
253мМ NaCl	251,56± 8,42	189	100	1332,09± 12,31	171	100	1492,58± 6,21	150	100
253мМ NaCl + 6-БАП	225,96± 8,64	171	90	1305,48± 8,45	167	98	1432,87± 6,447	144	96

Ведущая роль в регуляции пролина принадлежит АБК. Интерес представляло изучить влияние экзогенной обработки АБК на содержание пролина в листьях в условиях повышенных концентраций солей. Показано, что опрыскивание АБК контрольных растений стимулирует синтез пролина как у сорта МИС, так и у сорта Приокская. При этом не-

обходимо подчеркнуть, что сорт МИС характеризовался меньшей чувствительностью к обработке АБК по этому показателю (рис. 3). Так, если у сорта МИС в фазу кущения уровень пролина увеличился на 45%, то у сорта Приокская – на 55%. Важно отметить, что эффект обработки проявился в большей мере в первые дни после опрыскивания АБК.

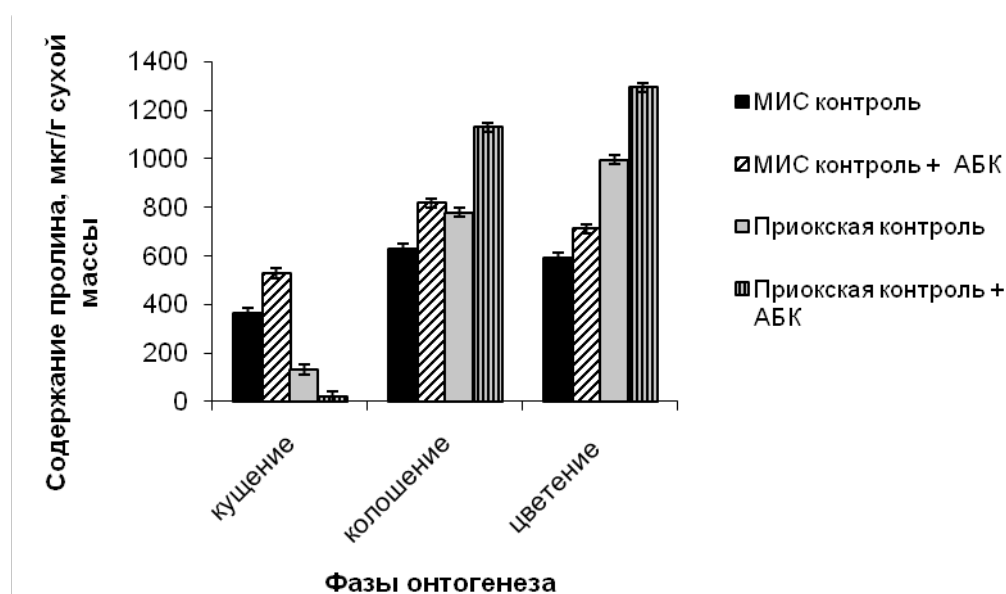


Рис. 3. Влияние обработки АБК на уровень накопления пролина в листьях пшеницы. Вариант без внесения NaCl, $\text{мкг}/\text{г}$ сухой массы

Согласно полученным данным, в условиях засоления NaCl обработка АБК оказала несколько иное, отличное от контрольного варианта, воздействие. Нами показано уменьшение содержания пролина в вариантах с внесением NaCl после обработки АБК. Такая реакция может быть следствием торможения

синтеза пролина и увеличения скорости его распада. Однако такое влияние обработки АБК проявилось лишь в первые сроки после опрыскивания (табл. 3-4). Реакции сортов на обработку АБК в условиях почвенного засоления NaCl в целом носили сходный характер.

Таблица 3

**Влияние обработки АБК на накопление пролина в условиях засоления NaCl.
Сорт МИС, $\frac{\text{мкг}}{\text{г сухой массы}}$**

Вариант	кущение			колошение			цветение		
		%	%		%	%		%	%
контроль	365,49± 7,12	100		628,21± 7,19	100		592,31± 9,15	100	
контроль + АБК	529,13± 6,85	145		816,45± 7,56	130		710,48± 8,46	120	
213мМ NaCl	562,95± 10,14	154	100	847,84± 5,35	135	100	713,53± 7,18	120	100
213мМ NaCl +АБК	500,18± 5,79	136	89	796,18± 7,14	127	94	684,48± 8,13	116	96
253мМ NaCl	584,12± 7,85	160	100	910,65± 2,46	145	100	828,81± 7,45	140	100
253мМ NaCl +АБК	554,81± 7,46	152	95	908,45± 1,57	144	100	894,25± 8,79	151	108

Таблица 4

**Влияние обработки АБК на накопление пролина в условиях засоления NaCl.
Сорт Приокская, $\frac{\text{мкг}}{\text{г сухой массы}}$**

Вариант	кущение			колошение			цветение		
		%	%		%	%		%	%
контроль	132,61± 7,48	100		779,04± 15,10	100		995,96± 11,13	100	
контроль + АБК	20,68± 9,13	155		1129,55± 10,21	145		1293,56± 9,46	130	
213мМ NaCl	200,11± 14,89	167	100	1128,96± 15,23	145	100	1292,98± 4,65	130	100
213мМ NaCl +АБК	180,04± 10,15	136	90	1060,32± 11,23	136	94	1266,16± 7,89	127	98
253мМ NaCl	251,56± 8,42	189	100	1332,09± 12,31	171	100	1492,58± 6,21	150	100
253мМ NaCl +АБК	238,54± 9,13	180	95	1334,48± 10,23	170	101	164,12± 10,23	164	110

Эффективность мультифункционального действия пролина при стрессе определяется способностью организма быстро индуцировать системы аккумуляции пролина в ответ на действие стрессора, способностью интенсивно накапливать свободный пролин до значительных внутриклеточных концентраций и наличием эффективной системы регуляции уровня стресс-индуцированного пролина. В вариантах с внесением NaCl экспериментально показано увеличение уровня пролина. Содержание пролина рассматривается как один из факторов резистентности растений к неблагоприятным условиям среды [4].

ЛИТЕРАТУРА:

1. Алиева З.М., Гамзатова З.Г., Юсуфов А.Г. Реакция на засоление среды изолированных структур растений // Вестник Дагестанского государственного университета. – Махачкала: Естест. науки, 1996. – Вып. 1. – С. 167-170.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1989. – 335 с.
3. Кузнецов В.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. – 1999. – Т. 46. – № 2. – С. 32-40.
4. Шевякова Н.И., Стеценко Л.А., Шорина М.В., Аронова Е.Е., Кузнецов В.В. Механизмы адаптации *Mesembryanthemum crystallinum* L., к NaCl-индуцированному окислительному стрессу на разных стадиях развития растения // Тезисы 5 Съезда общества физиологов растений России и Международная конференция «Физиология растений – основа фитобιο технологии, Пенза, 15-21 сентября 2003 г. – С. 359-360.
5. Kuznetsov V.I.V., Shevyakova N.I. Stress Responses of Tobacco Cells to High Temperature and Salinity. Proline Accumulation and Phosphorylation of Polypeptides // *Physiol. Plant.* – 1997. – V. 100. – P. 320-326.
6. Wang C. Y. Physiological and biochemical responses of plant to chilling stress// *Hort Sci.* – 1982. – V. 17. – № 2. – P. 173.