

УДК 581.19: 633.11

КОЛЕСНИКОВ М.О., канд. с.-г. наук

Таврійський державний агротехнологічний університет

## АДАПТИВНІ РЕАКЦІЇ ПШЕНИЦІ НА ДІЮ СОЛЬОВОГО СТРЕСУ В ГЕТЕРОТРОФНИЙ ПЕРІОД ОНТОГЕНЕЗУ

Показано, що сольове навантаження різної осмотичної сили викликало накопичення продуктів пероксидації та гальмування активності ряду ферментів ключових метаболічних процесів у тканинах зародкової осі, що призводило до уповільнення росту пшениці в гетеротрофний період проростання.

**Ключові слова:** адаптація, сольовий стрес, пероксидація, антиоксидантна система, морфометричні показники, пшениця.

**Постановка проблеми.** Засолення є одним з важливих абіотичних факторів навколишнього середовища, що набуває суттєвого впливу в південних районах України у зв'язку із погіршенням екології ґрунтів та інтенсивним зрошенням. Адаптація рослин до дії сольового навантаження є визначальною для формування врожаю. Сольовий стрес призводить до порушень фізіолого-біохімічних функцій рослинного організму [1]. При цьому посилюється генерація продуктів пероксидації та відбуваються адаптивні зміни у функціонуванні антиоксидантної системи, систем білкового та вуглеводного обміну рослинного організму.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Південний Степ України характеризується високим вмістом посівів продовольчих злакових культур на ґрунтах різного ступеня засолення. Високий сольовий фон призводить до гальмування ростових процесів, затримки в проходженні фенологічних фаз та зниження продуктивності сільськогосподарських рослин [2]. Дослідження реакцій сільськогосподарських культур на сольовий стрес дозволить розробити ефективні методи та заходи підвищення їх адаптації до негативної дії цього стресового чинника.

Тому **метою роботи** було з'ясування особливостей впливу сольового стресу на вміст продуктів пероксидації (ТБК-АП), каталазу,  $\alpha$ -амілазу, амінотрансаміназу активність та деякі морфометричні показники в гетеротрофний період проростання насіння пшениці.

**Матеріал і методика дослідження.** Дослідження проводили з використанням насіння озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Шестопаловка (врожай 2010 р.). Насіння пшениці пророщували на фільтрувальному папері в чашках Петрі за контрольованих параметрів протягом 7 діб. Схема досліду включала три варіанти у шестикратній повторності. Насіння контрольованого варіанта пророщували на дистильованій воді. Для індукції сольового стресу насіння пшениці пророщували на 0,1М (P=0,5 МПа) та 0,22М (P=1,0 МПа) розчинах хлориду натрію.

У ході досліду в сухому насінні, ендоспермі та органах зародкової осі (паросток та корені) визначали вміст ТБК-АП за модифікованою методикою Heath R.L., Parker L. [3], каталазу [4], аланінамінотрансферазу та аспаратамінотрансферазу [5],  $\alpha$ -амілазу активність [6], водорозчинну фракцію білка [6]. Відбір проб проводили з сухого насіння, на 6, 12, 24 години та 3, 5, 7 добу з моменту початку проростання насіння. Протягом першої доби пророщування досліджували динаміку набубнявіння насіння, на 3 добу визначали енергію проростання, на 7 добу – лабораторну схожість насіння та силу росту пшениці [7]. Результати опрацьовано статистично з використанням t-критерію Ст'юдента.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Поглинання води є ключовим фактором ініціації проростання насіння. В умовах зниженого водного потенціалу створеного сольовим середовищем процеси набубнявіння та проростання насіння уповільнені. Дослідження зміни ступеня набубнявіння насіння протягом першої доби показали, що вологість насіння за культивування на 0,1М та 0,22 М розчинах NaCl була меншою на 9,4 та 16,2 % відповідно, порівняно з контрольним насінням.

Безумовно, подібна динаміка призводить до уповільнення процесів гідролізу запасних речовин, ферментативної активності, що в кінцевому рахунку гальмує діяльність зародкової осі. Визначення енергії проростання та лабораторної схожості насіння пшениці в умовах засолення показало, що зазначені показники суттєво знижувалися (табл. 1).

Таблиця 1 – Енергія проростання, лабораторна схожість насіння, сира маса та довжина паростків і коренів пшениці за дії сольового стресу, ( $X \pm m$ ,  $n=6$ )

Варіант	Енергія проростання, %	Лабораторна схожість, %	Сира маса 100 шт., г		Довжина паростків, см
			паростки	корені	
контроль	93,5±1,5	94,0±2,1	6,38±0,23	6,38±0,23	6,38±0,23
NaCl 0,5 МПа	92,3±0,4	82,6±3,1*	3,61±0,34*	3,61±0,34*	3,61±0,34*
NaCl 1,0 МПа	86,5±1,4*	69,7±4,4* <sup>^</sup>	2,44±0,28* <sup>^</sup>	2,44±0,28* <sup>^</sup>	2,44±0,28* <sup>^</sup>

**Примітка.** Тут та далі: \* – різниця істотна порівняно з контрольним варіантом при  $p \leq 0,05$ ;  
<sup>^</sup> – різниця істотна порівняно з другим варіантом при  $p \leq 0,05$ .

Енергія проростання та лабораторна схожість насіння пшениці, що інкубувалося на сольовому розчині з осмотичним тиском 0,5 МПа зменшилися відповідно на 1,3–12,1 % ( $p < 0,05$ ) порівняно зі значеннями отриманими від насіння пророщеного на водному фоні. При зростанні осмотичного тиску розчину в 2 рази дані показники зменшувалися відповідно на 7,5 та 25,9 %.

Також зафіксовано суттєве зниження ( $p < 0,05$ ) показників сирової маси проростків і коренів пшениці та довжини проростків за умов сольового стресу. Так, за дії високоосмотичного розчину NaCl з  $P=1,0$  МПа сира маса проростків і коренів пшениці зменшилася в 2,1–2,6 разів, а довжина проростків – в 3,1 рази. Основною причиною різкого гальмування ростових процесів вважається накопичення іонів  $Na^+$  та  $Cl^-$  в зародку насіння, що проростає, наявність яких за умов накопичення продуктів гідролізу запасних речовин ендосперму утруднює транспортування останніх до зародка. Також, однією з причин пригнічення росту в умовах засолення може бути конкурентне відношення, що з'являється між іонами натрію та калію в клітинах тканин.

Сольовий стрес викликає у рослин порушення низки метаболічних процесів, серед яких співвідношення між процесами пероксидації та рівнем функціонування антиоксидантної системи визначає адаптаційні здатності рослинного організму [8].

За ступенем накопичення кінцевих продуктів пероксидації ліпідів (ТБК-АП) можна говорити про стійкість рослини до зовнішніх стресів. Протягом першої доби пророщування пшениці спостерігали поступове зменшення вмісту ТБК-АП в ендоспермі насіння. Зростання вмісту продуктів пероксидації в тканинах проростків за умов сольового стресу є свідченням більш високого рівня окислювального метаболізму в їхніх клітинах. Водночас, слід відмітити, що протягом першої доби пророщування насіння в умовах сольового стресу вміст ТБК-АП ендосперму майже не змінювався (табл.2).

Таблиця 2 – Вміст ТБК-АП в проростаючому насінні, паростках та коренях озимої пшениці за умов сольового стресу, мкМ/г

Час, год	Варіант	Варіант		
		контроль	NaCl 0,5 МПа	NaCl 1,0 МПа
0	насіння	8,11±0,13	8,10±0,11	8,14±0,15
6	-	5,37±0,01	4,90±0,05*	4,74±0,05*
12	-	4,73±0,05	5,01±0,14	5,27±0,03*
24	-	4,90±0,27	4,55±0,07	4,76±0,04
3доба	ендосперм	4,09±0,06	3,99±0,05	3,77±0,18
3доба	зар. вісь	5,85±0,04	7,01±0,09*	6,15±0,25
5доба	ендосперм	4,81±0,02	4,02±0,05*	4,29±0,19*
5доба	зар. вісь	6,73±0,05	8,02±0,08*	8,17±0,06*
7доба	ендосперм	7,42±0,03	7,79±0,47	6,84±0,06*
7доба	паросток	10,89±0,15	13,06±0,09*	14,57±0,05*
7доба	корені	5,57±0,22	7,51±0,16*	12,05±0,32*

Інтенсифікація процесів пероксидації за умов інкубації в сольовому середовищі проявлялася більшою мірою в органах зародкової осі пшениці. Так, вже на 5 добу пророщування вміст ТБК-АП в зародковій осі був на 20 % більшим порівняно з тканинами пшениці контрольного варіанта. У разі зростання сили сольового стресу до 1,0 МПа збільшився в 1,34 та 2,16 рази вміст ТБК-АП в тканинах проростків та коренів 7-добових рослин порівняно з водною культурою. Враховуючи складний

характер змін інтенсивності процесів пероксидації протягом онтогенезу слід відмітити, що між рівнем осмотичного тиску та вмістом ТБК-АП існує тісний кореляційний зв'язок ( $r = 0,91-0,99$ ).

Ключовим ферментом, який бере участь у захисті рослини від вільнорадикального окислення біомолекул є каталаза. Початковий етап проростання пшениці відзначається зростанням ферментативної активності за рахунок гідростимулюючої ініціації білкових комплексів. Протягом першої доби пророщування, КАТ активність ендосперму стрімко зростала майже в 10 разів (табл. 3).

Таблиця 3 – Каталазна активність в проростаючому насінні, паростках та коренях озимої пшениці за умов сольового стресу, мккат/г сир. тканини

Час, год		Варіант		
		контроль	NaCl 0,5 МПа	NaCl 1,0 МПа
0	насіння	177,5±20,9	170,4±18,5	179,2±16,3
6	-	276,5±84,2	235,1±33,6	204,8±29,6
12	-	335,5±25,8	202,9±14,5*	191,0±14,7*
24	-	1763,3±109,8	1348,6±64,7*	1030,5±62,9*
3 доба	ендосперм	664,7±60,7	766,6±29,3	1139,6±35,5*
3 доба	зар. вісь	1197,5±63,5	976,9±42,7*	1009,1±59,8*
5 доба	ендосперм	1930,4±28,8	1358,5±21,5*	1393,0±12,1*
5 доба	зар. вісь	2150,2±12,6	1717,4±15,0*	1434,6±26,5*
7 доба	ендосперм	124,8±19,4	447,15±8,33*	420,9±20,3*
7 доба	паросток	1211,2±10,4	914,4±6,4*	1055,2±10,2*
7 доба	корені	1616,9±27,9	1328,1±20,8*	1379,9±30,0*

Каталазна активність має виразний осмотичнозалежний характер, але зміна функціональної активності даного ферменту залежить від типу тканини. Так, в тканинах ендосперму пшениці протягом першої доби пророщування зафіксовано зниження КАТ активності за дії сольового стресу. Водночас сольовий стрес викликав стимуляцію каталази в органах зародкової осі 3- та 7-добового терміну пророщування, де її активність знижувалась в 1,2 та 1,5 рази ( $p \leq 0,05$ ). Зростання КАТ активності ймовірно дозволяє втримувати низький рівень процесів пероксидації в проростаючому насінні за умов сольового стресу.

Активність  $\alpha$ -амілази є чутливим маркером до осмотичних стресів, що зумовлено активацією її інгібіторів у період гетеротрофного етапу онтогенезу рослин. Гальмування активності  $\alpha$ -амілази призводить до зменшення пулу відновлених вуглеводів та, як результат, до послаблення резистентності осмотичному стресу [9]. У фазу набубнявіння спостерігається зростання активності  $\alpha$ -амілази в ендоспермі за дії сольового навантаження (табл. 4).

Таблиця 4 – Активність  $\alpha$ -амілази в проростаючому насінні, паростках та коренях озимої пшениці за умов сольового стресу, мг/год\*мг білка

Час, год		Варіант		
		контроль	NaCl 0,5 МПа	NaCl 1,0 МПа
0	насіння	487,3±2,8	481,7±3,9	476,2±2,9
6	-	516,9±1,3	656,4±7,3*	762,7±19,7*
12	-	500,1±10,7	551,4±4,4*	533,2±8,7
24	-	638,4±4,9	524,7±4,5*	553,7±10,9*
3 доба	ендосперм	574,1±5,2	442,8±4,4*	493,9±2,5*
3 доба	зар. вісь	346,0±1,9	50,8±4,2*	39,8±4,5*
5 доба	ендосперм	1046,8±2,2	742,1±3,9*	745,6±3,0*
5 доба	зар. вісь	286,9±4,4	110,3±6,5*	101,9±3,3*
7 доба	ендосперм	433,9±2,0	299,8±1,8*	333,7±3,5*
7 доба	паросток	108,5±8,9	91,1±4,3	47,2±2,8*
7 доба	корені	450,0±7,5	369,8±11,4*	178,6±7,4*

В цей період насіння поводить як адсорбент і ступінь активації ферментів залежить від його вологості. За умов сольового стресу, короткочасне зростання активності  $\alpha$ -амілази в ендоспермі насіння пшениці в подальшому онтогенезі зменшується порівняно з насінням пророщеним на воді.

Визначення  $\alpha$ -амілазної активності в органах зародкової осі в період від 3- до 7-ої доби від початку пророщування насіння пшениці показало, що експозиція на сольових розчинах призвела до суттєвого інгібування її активності. Подібне явище пояснюється нагромадженням екзогенних осмотичноактивних сполук та АБК-індукованим синтезом ендегенних осмолітів [9].

Дія сольового стресу відбивається на білковому обміні у рослин, який пов'язаний із ферментами АлАТ та АсАТ (табл. 5). В період гетеротрофного живлення проростка відбувається накопичення вільних амінокислот, які використовуються в реакціях переамінування. Амінотрансферазна активність ендосперму насіння пшениці зростала протягом першої доби пророщування.

Таблиця 5 – Активність АлАТ та АсАТ в проростаючому насінні, паростках та коренях озимої пшениці за умов сольового стресу, мкМ/год\*мг білка

Час, год		Варіант					
		контроль		NaCl 0,5 МПа		NaCl 1,0 МПа	
		АлАТ	АсАТ	АлАТ	АсАТ	АлАТ	АсАТ
0	насіння	19,9±0,9	19,8±0,4	19,5±0,8	19,0±0,2	19,3±0,7	19,9±0,4
6	-	20,9±0,9	19,9±0,8	21,4±1,0	29,0±0,7*	32,6±0,4*	31,0±0,1*
12	-	22,3±0,3	20,9±0,2	23,5±1,6	24,0±0,9*	27,9±1,0*	23,8±0,3*
24	-	23,9±0,6	21,0±0,5	24,5±1,3	18,3±1,7	27,1±0,1*	21,4±0,9
3 доба	ендосперм	9,4±0,7	9,9±0,5	8,4±0,5	7,5±0,7*	10,0±0,3	8,6±0,4
3 доба	зар. вісь	6,3±0,3	8,8±0,2	3,8±0,2*	5,5±0,4*	4,3±0,5*	4,6±0,4*
5 доба	ендосперм	4,1±0,3	13,2±0,2	6,5±0,4*	10,2±0,2*	6,0±0,4*	10,9±0,1*
5 доба	зар. вісь	7,8±0,5	16,6±0,7	6,2±0,4	12,4±0,3*	5,7±0,3*	11,9±0,2*
7 доба	ендосперм	2,6±0,1	5,2±0,1	3,8±0,1*	5,3±0,2	4,8±0,2*	5,8±0,2*
7 доба	паросток	5,3±0,3	6,1±0,3	4,1±0,1*	5,0±0,1*	4,5±0,2	4,7±0,1*
7 доба	корені	6,1±0,4	12,9±0,2	5,6±0,3	8,2±0,3*	5,0±0,1*	8,1±0,1*

В цей період, за дії сольового навантаження АлАТ та АсАТ активність ендосперму насіння пшениці була більшою порівняно з контрольними показниками. Причому, зростання АлАТ та АсАТ активності ендосперму пшениці мало пряму залежність від величини осмотичного потенціалу розчинів зі ступенем кореляції ( $r = 0,66-0,99$ ). В подальшому онтогенезі спостерігали падіння активності ферментів трансамінування в ендоспермі пшениці.

Встановлено, що сольовий стрес викликав послаблення АлАТ та АсАТ активності до 40 % в органах зародкової осі пшениці на ранніх етапах проростання. Вірогідної кореляції між активностями ферментів амінотрансфераз та осмотичним потенціалом середовища не виявлено. Імовірно, інгібування активності трансаміназ на фоні сольового стресу носить адаптивний характер і пов'язано з процесами регуляції пулу низькомолекулярних осмолітів глутаматної природи [10].

**Висновки.** Наведені результати показують, що сольовий стрес різної осмотичної сили викликав ініціацію процесів пероксидації в органах зародкової осі пшениці, що супроводжувалося гальмуванням каталазної,  $\alpha$ -амілазної та трансаміназної активності протягом гетеротрофного періоду онтогенезу. Встановлені метаболічні зміни обумовили інгібування ростових процесів на ранньому етапі проростання пшениці.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Hasegawa P.M. Plant Cellular and Molecular Responses to High Salinity / P.M. Hasegawa, R.A. Bressan, J.-K. Zhu, H.J. Bohnert // Plant Physiol. – 2000. – V. 51. – P. 463–499.
2. Reynolds M.P. Application of physiology in wheat breeding / M.P. Reynolds, J.I. Ortiz-Monasterio, A. McNab. – CIMMYT, 2001. – 246 p.
3. Heath R.L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation / R.L. Heath, L. Packer // Archives in Biochemistry and Biophysics. – 1968. – V.125. – P.189–198.
4. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, А.И. Иванова, И.Т. Майорова // Лаб. дело. –1988. –№1. – С.16–19.
5. Полевой В.В. Методы биохимического анализа растений / В.В. Полевой, Г.Б. Максимов. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1978. – 192 с.
6. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений / А.И. Ермаков, В.В. Арасимович, Н.П. Ярош и др.; под ред. А.И. Ермакова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.

7. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести: ГОСТ 12038–84. Введенный 01.07.86. – М., 1984. – 30 с.
8. Afzal I. Physiological enhancements for alleviation of salt stress in wheat / I. Afzal, Sh.M. A. Basra, A. Hameed, M. Farooq // Pak. J. Bot. – 2006. – V. 38(5). – P. 1649–1659.
9. Oudjeriouat N. On the mechanism of  $\alpha$ -amylase / N. Oudjeriouat, Y. Moreau, M. Santimone, B. Svensson, G. Marchis-Mouren, V. Desseaux // Eur. J. Biochem. – 2003. – V.270. – P. 3871–3879.
10. Бильчук В. С. Влияние эндо- и экзогенных факторов на ферменты переаминирования / В. С. Бильчук, О. А. Папета // Адаптация растений в антропогенных условиях. – Д.: ДГУ, 1992. – С. 4–14.

#### **Адаптивные реакции пшеницы на действие солевого стресса в гетеротрофный период онтогенеза**

**М.А. Колесников**

Показано, что солевой стресс разной осмотической силы вызывал накопление продуктов пероксидации и ингибировал активность ряда ферментов ключевых метаболических процессов в тканях зародышевой оси, что привело к замедлению роста пшеницы в гетеротрофный период прорастания.

**Ключевые слова:** адаптация, солевой стресс, пероксидация, антиоксидантная система, морфометрические показатели, пшеница.

#### **Adaptive reaction of wheat under salt stress during heterotrophic ontogenesis period**

**M. Kolesnykov**

It is shown that salt stress of different osmotic pressure cause the accumulation of peroxidation products and inhibited the activity of some enzymes in main metabolic pathway in the tissues of the embryonic axis. Its lead to slower the growth of wheat during heterotrophic stages of germination.

**Keywords:** adaptation, salt stress, peroxidation, antioxidant system, morphometric parameters, wheat.