

ВЛИЯНИЕ ЗАСОЛЕНИЯ НА ИОННЫЙ БАЛАНС В КОРНЯХ И ЛИСТЬЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ С РАЗЛИЧНЫМ ГЕНОМНЫМ СОСТАВОМ

(ДГП «Институт биологии и биотехнологии растений РГП «НЦБ РК» Комитета науки МОН РК, г. Алматы)

Показано значительное изменение ионного баланса в корнях и листьях изучаемых форм пшеницы на фоне солевого стресса. Отмечено, что соотношение K^+/Na^+ снижается по мере усиления солевого стресса. Выделены формы, характеризующиеся относительно высокими показателями соотношения K^+/Na^+ и сравнительно низким накоплением Ca^{2+} как в контрольном, так и в опытных вариантах. Выявлена достоверная отрицательная корреляция между относительным приростом биомассы листьев в условиях стресса и соотношением в них ионов K^+/Na^+ .

Изменение мембранного транспорта ионов при стрессе является одной из важнейших реакций растительных клеток для поддержания и восстановления гомеостаза. Повышенное накопление натрия растительными клетками в литературе объясняется тем, что осмотический эффект при действии стресса уменьшает количество свободной воды в цитозоли, быстро увеличивая концентрацию растворенных веществ, а ионный эффект вызывается притоком ионов Na^+ через K^+/Na^+ -каналы, которые также увеличивают внутриклеточную концентрацию солей [1]. Поэтому, чтобы увеличить солетолерантность хлебных злаков, внимание большинства исследователей сосредоточилось на том, чтобы идентифицировать новые генетические источники наименьшего накопления ионов Na^+ в листьях [2]. Меньше внимания уделяли поиску генетических источников устойчивости к засолению при высокой концентрации Na^+ в листьях, вероятно, потому, что такие источники выявить гораздо труднее. Однако такие источники все-таки были идентифициро-

ваны у некоторых форм риса [3, 4] и твёрдой пшеницы [5].

Токсичное действие засоления напрямую связано с тем, что ионы Na^+ заменяют ионы K^+ в цитозоли [6]. Поэтому способность растительных клеток поддерживать стабильный уровень цитозольного K^+ в среде с высокой концентрацией Na^+ также может быть ключевым фактором в определении способности переносить солевой стресс, так как калий – активатор многих ферментов растительной клетки [7]. Немаловажную роль играет активация мембранного транспорта Ca^{2+} [8].

Есть мнение, что механизмы ионного гомеостатирования, происходящие на уровне плазматической мембранны, в условиях повышенного содержания хлористого натрия в среде являются наиболее общими для всех генотипов [9]. Однако вопрос о том, насколько уровень изменения ионного баланса в листьях и корнях злаков при стрессе связан с их полевой солеустойчивостью, остается пока открытым.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследований служили виды пшениц: *T. monococcum* L. (A^uA^u), *T. pseudomono-*
coccum L. (A^uA^u), *T. sinskaya* Filat. et Kurk. (A^bA^b), *T. polonicum* L. (A^uA^uBB), *T. aethiopicum* Jakubz. (A^uA^uBB), *T. dicoccum* Shuebl. (A^uA^uBB), *T. turgidum* L. (A^uA^uBB), *T. macha* L. (A^uA^uBB), *T. compactum* L. (A^uA^uBBDD), *T. compactum v. rufulum* (A^uA^uBBDD), *T. spelta* L. (A^uA^uBBDD), *T. kiharae* Dorof. et Migusch. (A^tA^tGGDD), а также *T. aestivum* L. (A^uA^uBBDD) (сорта Саратовская-29, Мироновская-808, Ленинградка).

При лабораторной оценке солеустойчивости 10-дневных проростков пшеницы в условиях искусственного засоления за основу были взяты методики Г. В. Удовенко [10]. Проростки 7 суток выращивали в водной культуре, затем в течение 72 часов подвергали действию стресса. Стressовые условия создавали, экспонируя проростки в растворе NaCl , 9 атм, наглядно дифференцирующей образцы по росту и накоплению биомассы, снижение которых у менее устойчивых сортов доходило до 50% [11]. Конт-

ролем служили проростки, выращиваемые на воде.

Определение содержания ионов K^+ , Na^+ и Ca^{2+} в корнях и листьях пшениц проводилось на атомно-абсорбционном спектрофотометре AAS-1 при длине волны соответственно 766.5, 589.2 и 422.7 нм [12].

Результаты и обсуждение

Как правило, генотипы с низким содержанием Na^+ продуцируют больший выход растительной биомассы (в расчете на сухое вещество), у них меньше травмированных листьев и большая пропорция живых листьев по отношению к мертвым [5]. Однако другие источники не отмечают никакой очевидной корреляции между содержанием Na^+ в листе и солеустойчивостью пшеницы [13].

Данные, полученные в результате наших экспериментов и отраженные в рис. 1, 2 показывают, что на фоне визуального замедления и даже прекращения ростовых процессов, при стрессе значительно увеличивается содержание ионов натрия в растительных клетках всех изучаемых форм, что согласуется и с данными литературы [14].

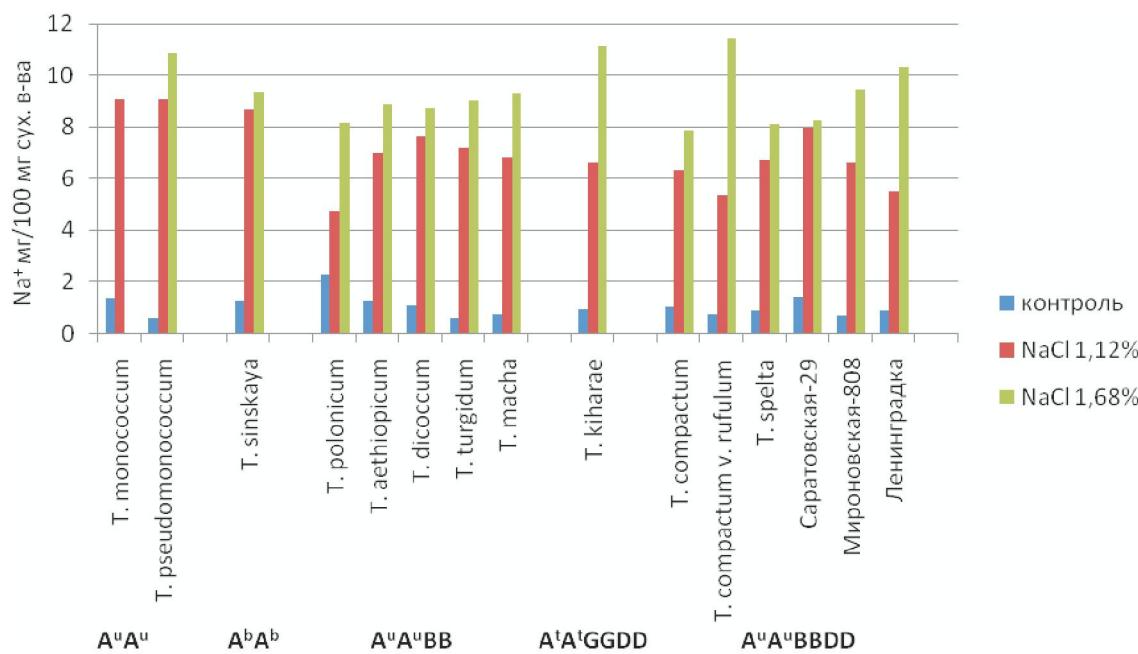


Рис. 1. Влияние засоления на содержание ионов Na^+ в корнях проростков пшениц с различным геномным составом

Что касается влияния геномного состава изучаемых форм на уровень накопления ионов Na^+ при стрессе, то в листьях наибольшим этот показатель был у представителей генома A^b и A^t (*T. sinskaya* и *T. kiharae*), но в

целом – четкой зависимости от формулы генома не наблюдалось. В корнях наименьшим в среднем накоплением Na^+ при солевом стрессе характеризовались тетраплоидные пшеницы ($AABB$).

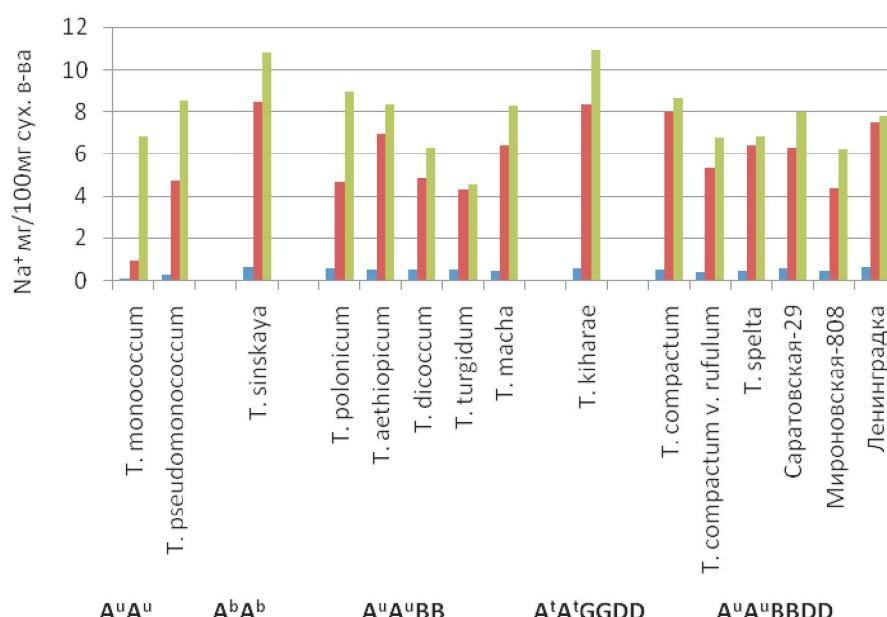


Рис. 2. Влияние засоления на содержание ионов Na^+ в листьях проростков пшениц с различным геномным составом (варианты рисунка те же, что и на рис. 1)

При этом нами выявлены достоверные отрицательные корреляции между относительным приростом биомассы листьев в условиях стресса (1,68%) и накоплением в них ионов Na^+ (30%), между относительным приростом биомассы корня в условиях стресса (1,68%) и накоплением в них ионов Na^+ ($r=-0,26^*$), а также – между относительным изменением длины листа и накоплением Na^+ ($r=-0,2^*$), изменение длины корня в условиях стресса и накоплением Na^+ ($r=-0,32^*$). Таким образом, показатель накопления ионов Na^+ нам представляется несомненно важным.

Накопление натрия – безусловно, значимый, но не единственный показатель чувствительности/устойчивости растительных клеток к действию солевого стресса. Данные литературы показывают, что поступление ионов K^+ от поверхности корня к тканям проростков пшеницы в ответ на солевой стресс может достоверно коррелировать с основными физиологическими особенностями и урожайностью растений, и потому уровень K^+ может быть использован в качестве маркера солеустойчивости растения [13].

Помимо общей тенденции увеличения при стрессе содержания Na^+ , наши экспериментальные данные показывают тенденцию к снижению уровня K^+ в корнях и листьях всех изучаемых генотипов (см. рис. 3, 4).

Как следует из данных, представленных на диаграммах, наибольшим снижением уровня K^+ в листьях характеризовались носители геномов A^b и A^t , наименьшим изначальным содержанием K^+ и наименьшим снижением его уровня в листьях при стрессе характеризовались гексаплоидные формы (AABBDD). В корнях же картина была иной. Именно у представителей гексаплоидных форм снижение уровня K^+ относительно контроля в среднем было наибольшим.

Как правило, солетолерантность представителей *Triticeae* связывается с низкими процентами транспорта Na^+ от корня к надземным органам и высокой селективностью для ионов K^+ относительно Na^+ [15, 16]. Низкие концентрации Na^+ связываются с конкуренцией между Na^+ и K^+ . Отмечается, что уровень соотношения K^+/Na^+ усиливает дискриминацию процесса, действующего в корнях зерновых злаков и в большей или меньшей степени – в корнях всех растений [17, 18]. Отмечается, что соотношение K^+/Na^+ снижается по мере усиления солевого стресса, стремясь к нулю, и его уровень ниже в корнях, чем в листьях [19]. Высказано предположение, что именно соотношение K^+/Na^+ в цитозоле, а не абсолютная концентрация Na^+ является критическим показателем уровня стресса для растения [20]. Чем ближе значение соотношения к нулевой отметке – тем ближе растение к гибели.

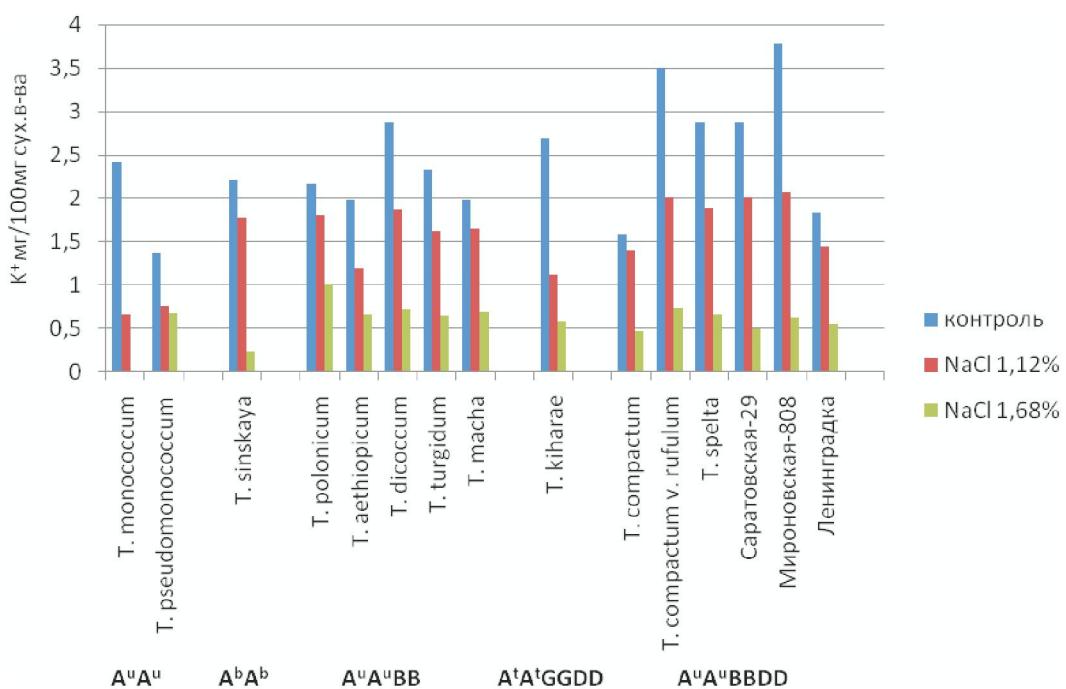


Рис. 3. Влияние засоления на содержание ионов K⁺ в корнях проростков пшеницы с различным геномным составом

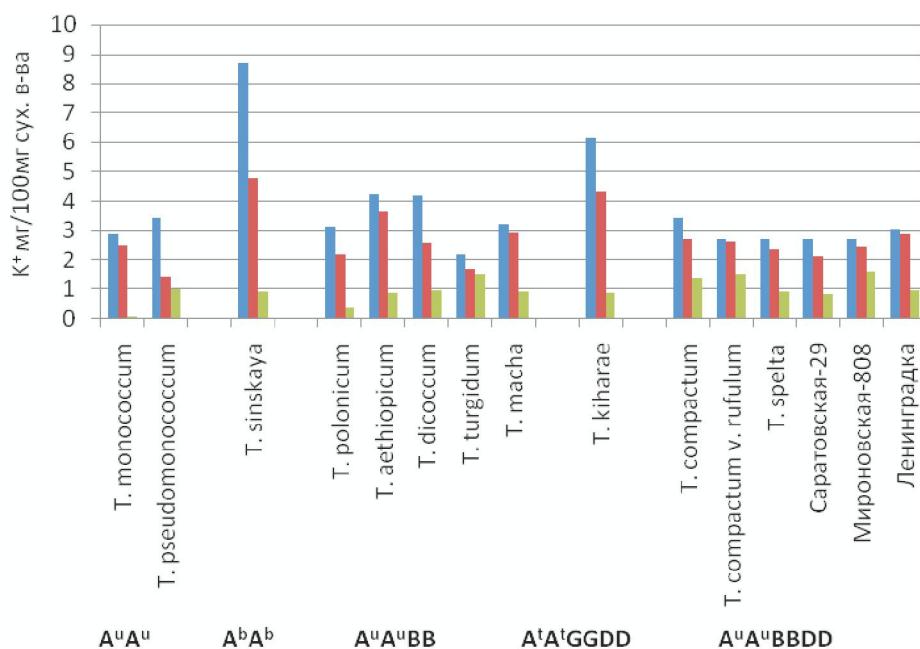


Рис. 4. Влияние засоления на содержание ионов K⁺ в листьях проростков пшеницы с различным геномным составом (варианты рисунка те же, что и на рис. 3)

У пшеницы выявлены корреляционные зависимости между урожаем зерна и низким содержанием Na⁺ в листьях, наряду с высоким уровнем соотношения K⁺/Na⁺ [21, 22]. Хотя эти зависимости и не подтверждаются для всех изучаемых генотипов – отмечены и случаи,

когда формы, в частности, *T. monococcum*, с относительно высоким соотношением K⁺/Na⁺ в эксперименте, страдают от действия солевого больше остальных [23]. Эти выводы подтверждаются данными наших экспериментов (см. таблицу).

**Влияние солевого стресса на соотношение ионов K^+/Na^+
у проростков пшеницы с различным геномным составом**

Геномный состав	Генотип	Корни			Листья		
		контр.	1,12% NaCl	1,68% NaCl	контр.	1,12% NaCl	1,68% NaCl
A ^u A ^u	<i>T. monococcum</i>	1,76	0,07	—	22,07	2,71	0,01
A ^u A ^u	<i>T. pseudo-monococcum</i>	2,28	0,08	0,06	10,69	0,30	0,15
A ^b A ^b	<i>T. sinskaya</i>	1,83	0,21	0,03	12,58	0,57	0,09
A ^u A ^u BB	<i>T. polonicum</i>	0,96	0,39	0,13	5,08	0,47	0,04
A ^u A ^u BB	<i>T. aethiopicum</i>	1,57	0,17	0,07	7,98	0,53	0,07
A ^u A ^u BB	<i>T. dicoccum</i>	2,67	0,23	0,08	7,37	0,53	0,15
A ^u A ^u BB	<i>T. turgidum</i>	4,03	0,23	0,07	3,86	0,39	0,34
A ^u A ^u BB	<i>T. macha</i>	2,76	0,24	0,08	6,35	0,46	0,06
A ^u A ^u BBDD	<i>T. compactum</i>	1,61	0,22	0,06	6,33	0,34	0,16
A ^u A ^u BBDD	<i>T. compactum v. rufulum</i>	5,00	0,38	0,06	6,66	0,50	0,22
A ^u A ^u BBDD	<i>T. spelta</i>	3,38	0,28	0,08	5,93	0,37	0,14
A ^t A ^t GGDD	<i>T. kiharae</i>	3,00	0,17	0,05	10,27	0,52	0,08
A ^u A ^u BBDD	Саратовская-29	2,02	0,25	0,06	4,58	0,33	0,11
A ^u A ^u BBDD	Мироновская-808	5,56	0,31	0,07	5,81	0,56	0,26
A ^u A ^u BBDD	Ленинградка	2,08	0,26	0,05	4,44	0,39	0,12

Результаты экспериментов позволили нам выявить значительное снижение соотношения K^+/Na^+ в корнях и листьях пшеницы под воздействием NaCl. Относительно высокими показателями соотношения K^+/Na^+ как в контрольном, так и в опытных вариантах характеризовались *T. pseudomonococcum*, *T. dicoccum*, *T. turgidum*, *T. compactum v. rufulum* и Мироновская-808. Выявлена достоверная отрицательная корреляция ($r=-0,33^*$) между относительным приростом биомассы листьев в условиях стресса (1,68%) и соотношением в них ионов K^+/Na^+ .

Таким образом, на основании полученных экспериментальных данных, показатель соотношения K^+/Na^+ при стрессе нам представляется чрезвычайно важным, но с точки зрения устойчивости к солевому стрессу, он более информативен при учете в листьях, чем в корнях проростков.

Из литературных источников известно, что один из результатов окислительных процессов при стрессе – активация мембранных транспортеров Ca^{2+} [8]. А повышение концентрации Ca^{2+} , даже кратковременного, достаточно, чтобы запустить специфические мембранные каналы и транспортные системы и вызвать структурные изменения в клетке [24]. Поэтому регулирование внутриклеточного уровня Ca^{2+} является критическим фактором при адаптации растений к неблагоприятным условиям.

Результаты наших экспериментов по определению накопления проростками изучаемых форм пшениц ионов Ca^{2+} при солевом стрессе показано на рис. 5, 6.

Как видно из диаграмм, в условиях солевого стресса и в корнях, и в листьях проростков происходит повышение уровня кальция. Наибольшим накоплением Ca^{2+} как в корнях, так и в листьях при солевом стрессе характеризовался вид *T. kiharae*. Наименьшее накопление ионов кальция при стрессе в корнях отмечено у *T. polonicum*, в листьях – у *T. turgidum*.

В целом, относительно высокими показателями соотношения K^+/Na^+ и сравнительно низким накоплением Ca^{2+} в листьях характеризовались формы *T. dicoccum*, *T. turgidum*, *T. compactum v. rufulum* и Мироновская-808.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об общности механизмов ионного гомеостатирования клеток при засолении для различных генотипов, но показывают, что при характеристике устойчивости более информативными являются показатели изменения ионного состава или баланса в листьях молодых растений, чем в корнях и позволяют выявить формы, характеризующиеся относительно высокими показателями соотношения K^+/Na^+ и сравнительно низким накоплением Ca^{2+} как наиболее устойчивые к солевому стрессу.

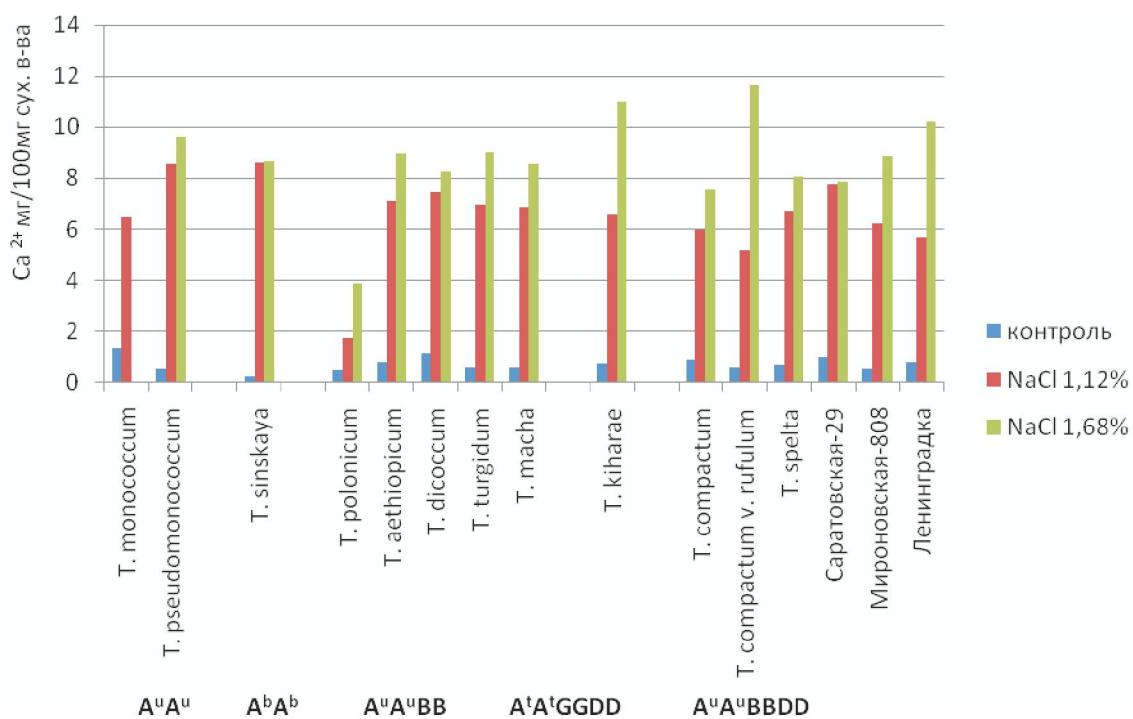


Рис. 5. Влияние засоления на содержание ионов Ca^{2+} в корнях проростков пшеницы с различным геномным составом

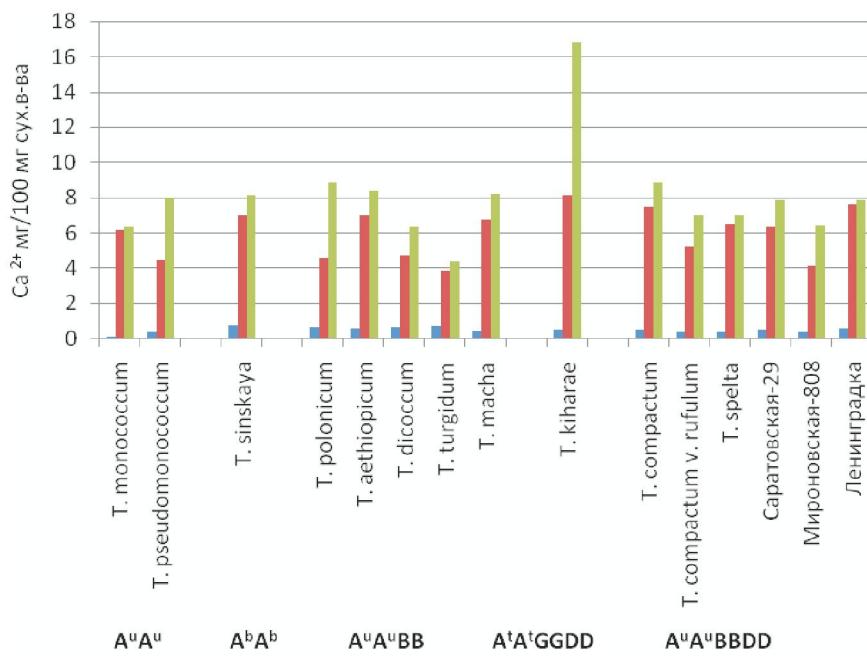


Рис. 6. Влияние засоления на содержание ионов Ca^{2+} в листьях проростков пшеницы с различным геномным составом (варианты рисунка те же, что и на рис. 5)

ЛИТЕРАТУРА

1. Allakhverdiev S. I., Sakamoto A., Nishiyama Y., Inaba M., Murata N. Ionic and Osmotic Effects of NaCl-Induced Inactivation of Photosystems I and II in *Synechococcus* sp. // Plant Physiol. July 2000. V. 123. P. 1047-1056.
2. Colmer T.D., Flowers T.J., Munns R. Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat // Journal of Experimental Botany. 2006. 57(5). P. 1059-1078.
3. Yeo A. R., Flowers T. J. Salinity resistance in rice (*Oryza sativa L.*) and a pyramiding approach to breeding varieties for saline soils // Australian Journal of Plant Physiology. 1986. 13: P. 161-73.
4. Yeo A. R., Yeo M. E., Flowers S. A., Flowers T. J. Screening of rice (*Oryza sativa L.*) genotypes for physiological characters contributing to salinity resistance, and their relationship to overall performance // Theoretical and Applied Genetics. 1990. 79. P. 377-384.
5. Munns R., James R.A. Screening methods for salt tolerance: a case study with tetraploid wheat // Plant and Soil. 2003. 253. P. 201-218.
6. Carden D.E., Diamond D., Miller A.J. An improved Na⁺-selective microelectrode for intracellular measurements in plant cells // J. Exp. Bot. 2001. 52. P. 1353-1359.
7. Maathuis F.J.M., Amtmann A. K⁺ nutrition and Na⁺ toxicity: the basis of cellular K⁺/Na⁺ ratios // Ann. Bot. 1999. 84. P.123-133.
8. Mori I. C., Schroeder J. I. Reactive Oxygen Species Activation of Plant Ca²⁺ Channels. A Signaling Mechanism in Polar Growth, Hormone Transduction, Stress Signaling, and Hypothetically Mechanotransduction // Plant Physiology. 2004. 135. P. 702-708.
9. Таимухамедов Б. А., Гагельганс А. И. Активный транспорт ионов через биологические мембранны. Ташкент, 1973.
10. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: Методич. руководство / Под ред. Г. В. Удовенко. Л.: ВИР, 1988. 268 с.; Udoenko G.V. Diagnostics of plant resistance to stress impacts: Methodical handbook. Redaction of A-RIA. 1988. 268 p.
11. Коваль В.С. Давыдова, Г.В. Оценка коллекции ячменя на солеустойчивость // Научн.-техн. бюл. ВИР. «Генофонд культурных растений для целей селекции». Л., 1990. Вып. 207. С. 13-14.
12. Костюк Т.П., Садыков Ш.Ш., Садыков Р.Ш., Бигалиев А.Б. Устройство для автоклавного разложения биоматериалов, повышающее качество экологической оценки природной среды // Вестник КазНУ. 2000. № 1(9). С. 125-127.
13. Cuin T.A., Betts S.A., Chalmandrier R., Shabala S. A root's ability to retain K⁺ correlates with salt tolerance in wheat // J. Exp. Bot. 2008. 59(10). P. 2697-2706.
14. Flowers T. J., Hajibagheri M.A. Salinity tolerance in *Hordeum vulgare*: ion concentrations in root cells of cultivars differing in salt tolerance // Plant Soil. 2001. 231. P. 1-9.
15. Gorham J., Bristol A., Young E.M., Wyn Jones R.G., Kashour G. Salt tolerance in the Triticeae: K/Na discrimination in barley // Journal of Experimental Botany. 1990. 41. P. 1095-1101.
16. Ali Y., Aslam Z., Ashraf M. Y. and Tahir G. R. Effect of salinity on chlorophyll concentration, leaf area, yield and yield components of rice genotypes grown under saline environments. Inter // J. Environ. Sci. Tech. 2004. 1. P. 229-234.
17. Ashraf M. Y., Sarwar G. Salt tolerance potential in some members of Brassicaceae. Physiological studies on water relations and mineral contents. In prospects for Saline Agriculture. R. Ahmad and K. A. Malik (Eds.) Kluwer Academic Publishers Netherlands. 2002. P. 237-245.
18. Jeschke W. D., Nassery H. K⁺-Na⁺selectivity in roots of Triticum, Helianthus and Allium. Physiol. Plant. 1981. 52. P. 217-224.
19. El-Ikkil Y., Karrou M., Mrabet R., Benichou M. Effet du stress salin sur la variation de certains metabolites chez Lycopersicon esculentum et Lycopersicon sheesmanii=Salt stress effect on metabolite concentrations of Lycopersicon esculentum and Lycopersicon sheesmanii // Canadian journal of plant science (Can. j. plant sci.). 2002. V. 1. 82. № 1. P. 177-183.
20. Carden D. E., Walker D.J., Flowers T.J., Miller A. J. Single-Cell Measurements of the Contributions of Cytosolic Na⁺ and K⁺ to Salt Tolerance // Plant Physiol. February 2003. V. 131. P. 676-683.
21. Chhipa B.R., Lal P.. Na/K ratios as the basis of salt tolerance in wheat // Australian Journal of Agricultural Research. 1995. 46. P. 533-539.
22. Ashraf M., Khanum A. Relationship between ion accumulation and growth in two spring wheat lines differing in salt tolerance at different growth stages // Journal of Agronomy and Crop Science. 1997. 178. P. 39-51.
23. El-Hendawy S.E., Hu Y., Schmidhalter U. Growth, ion content, gas exchange, and water relations of wheat genotypes differing in salt tolerances // Australian Journal of Agricultural Research. 2005. 56. P. 123-134.
24. Geisler M., Frangne N., Gomus E., Martinoia E., Palmgren M.G. The ACA4 Gene of Arabidopsis Encodes a Vacuolar Membrane Calcium Pump That Improves Salt Tolerance in Yeast // Plant Physiol. December 2000. V. 124. P. 1814-1827.

Резюме

Бидайдың *T. aestivum* L. және оның жабайы туыстары өскінінің тамыры мен жапырағындағы иондар тепе-тендігіне тұзды стресс әсерлері зерттелді. Стреске қарсы бидайдың әртүрлі реакциялары анықталды. Өскін мүшелеңдеріндегі калийдің натрийге катынасы ортадағы тұздың концентрациясы өсken сайын төмөндейтін анықталды. Бидайдың үлпаларындағы K⁺/Na⁺ шамасы жоғары және Ca²⁺-ді аз мөлшерде шоғырландыратын формалары айқындалды. Өскіннің өсу қарқыны мен мүшелеңдеріндегі калийдің натрийге катынасы арасындағы шынайы теріс корреляцияның орын алатыны белгілі болды.

Summary

Considerable change of ionic balance in roots and leaves of target forms of wheat against salt stress is shown. It is noticed that the parity K⁺/Na⁺ decreases in process of strengthening of salt stress. The forms theater characterised by rather high indicators of parity K⁺/Na⁺ and rather low accumulation Ca²⁺ both in control, and in test variants are allocated. An authentic negative correlation between the relative gain of a biomass of leaves in the conditions of stress and the parity in them of ions K⁺/Na⁺ is revealed.