

Г.С. Султангазиева¹, С.О Ахметова¹

¹Алматинский технологический университет, г. Алматы, Казахстан

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ХЛОРИДА НАТРИЯ И ИОНОВ МЕДИ НА ФИЗИОЛОГИЮ ЯЧМЕНЯ

Аннотация. Рассмотрены проблемы возникновения физиологических и биохимических изменений в структуре ячменя. Показано, что одной из проблем является засоление почв и загрязнение тяжелыми металлами, в частности, ионами меди. Цель исследования - оценка степени воздействия хлорида натрия и сульфата меди на различные сорта ячменя, их устойчивость на основе интегральных физиологических и биохимических подходов. Представлены результаты сравнительных исследований различных казахстанских сортов ячменя, их защитная адаптационная реакция в ответ на действие засоления и меди (повышение активности антиоксидантных ферментов, полиаминов, стрессовых аминокислот). Выявлено, что рост корней и накопление биомассы корнями подавлялись в меньшей степени в условиях засоления по сравнению с надземными органами. Полученные данные позволяют использовать их как интегральные показатели устойчивости растений.

Ключевые слова: ячмень, засоленность почвы, биомасса, тургорная масса, биометрические показатели, устойчивость к воздействию стрессоров.

• • •

Түйіндеме. Мақалада арпа дақылының физиологиялық және биохимиялық құрылымының өзгеру мәселелері қарастырылған. Мәселелердің бірі – топырақтың тұздануы мен ауыр металдармен ластануы, әсіресе мыс иондарымен. Зерттеудің мақсаты – арпаның әр түрлі сорттарына натрий хлориді мен мыс сульфатының әсер ету дәрежесін олардың тұрақтылығын интеграциялды физиологиялық және биохимиялық тәсілдері негізінде бағалау. Арпаның қазақстандық сұрыптарын салыстырмалы түрде зерттеу нәтижелері, олардың тұздануы мен мыстың әсеріне жауап ретінде қорғаныс реакциясының қалыптасуы (күйзелісті аминқышқылдар, полиаминдер, антиоксидантты ферменттердің белсенділігі жоғарылайды). Тұздану жағдайында салыстырған кезде топырақ үстіндегі мүшелерінен гөрі, тамырларының өсіндісі мен биомассасының жинақталу әсерінің аз болғаны анықталды. Алынған мәліметтер бойынша есімдіктердің төзімділігін интегралды керсеткіштер ретінде пайдалануға мүмкіндік береді.

Түйінді сөздер: арпа, топырақтың тұздылығы, биомасса, тургорлық масса, биометрлік керсеткіш, күйзеліске тұрақтылығы.

Abstract. The article considers the problems of physiological and biochemical changes in barley structure and shows that one of the problems is salinization of soils and its contamination with heavy metals, particularly with copper ions. The aim of the study was to assess the impact of sodium chloride and copper sulfate on different varieties of barley, their stability based on integrated physiological and biochemical approaches. The study sets forth the results of comparative studies of various Kazakh barley varieties, their protective adaptation reaction in response to the action of salinity and copper (increased activity of antioxidant enzymes, polyamines, and stress inducing amino acids). It was revealed that root growth and biomass accumulation by roots were suppressed to a lesser extent under salinization conditions in comparison with above-ground organs. The obtained data allows using them as integral indicators of plant resistance.

Keywords: barley, soil salinity, biomass, turgor mass, biometric indicators, resistant to stressors.

Введение. Засоление является одной из экологических проблем в Казахстане. Основную угрозу для водных ресурсов на юге и юго-востоке страны составляет орошаемое земледелие. В казахстанских степях грунтовые воды очень сильно минерализованы. В результате происходит процесс осолонцевания (<http://www.ca-oasis.info/oasis>). Значительные площади почв и вод, особенно в окрестностях больших городов и крупных промышленных комплексов, загрязнены тяжелыми металлами. Засоленные почвы в Прибалхашье также загрязнены тяжелыми металлами вокруг предприятий по добыче и переработке меди таких, как Балхашмедь и Жезказганцветмедь. Постоянно растущие объемы отходов промышленного производства формируют новые техногенные ландшафты. Они становятся источниками интенсивного пылеобразования и распространяются на сотни километров, загрязняя окружающую среду. Результатом является совместное воздействие засоления и тяжелых металлов на экосистему в целом. В настоящее время недостаточно изучены теоретические аспекты физиолого-биохимических механизмов устойчивости растений, в том числе сельскохозяйственных, к засолению. Более четверти территорий республики непригодны для жизни из-за испытаний на военных полигонах, из-за того, что фабрики и заводы оставляют после своей деятельности тонны токсичных промышленных выбросов, а сельское хозяйство использует тонны ядовитых химических веществ, для борьбы с сорняками и насекомыми. Из-за опустынивания потеряна почти половина пастбищ, 75% поливных земель засолены. В отдельных районах средняя продолжительность жизни людей сократилась на 15-20 лет по сравнению с развитыми странами [1].

Одновременно происходит дегумификация и засоление почв. По данным Агентства по управлению земельными ресурсами Республики Казахстан засоленные и солонцовые земли составляют 94,9 млн. га – 42,1%. Засоление орошаемых почв, как фактор опустынивания, имеет два крупных аспекта проблемы: рост солончаковых пустынь в бессточных бассейнах и вторичное засоление орошаемых земель. Доля засоленных почв составляет примерно 20% от площади всей орошаемой пашни. В этих районах развивается сельское хозяйство, расположены посевы пшеницы и других сельскохозяйственных культур. Посевы под пшеницу в Казахстане растут по отношению к другим странам [2,3]. Сложившаяся экологическая ситуация в орошаемом земледелии снизила валовый сбор растениеводческой продукции 1,6-1,8 раза [4,5]. Поэтому в связи с тяжелой экологической обстановкой в данных регионах выявление устойчивых к действию засоления и тяжелых металлов видов сельскохозяйственных культур, разработка физиологических и биохимических тест-систем является необходимым этапом на пути дальнейшего развития земледелия.

Цель работы - идентификация различных сортов сельскохозяйственных культур (ячменя), устойчивых к воздействию хлорида натрия (засолению) и сульфата меди, на основе интегральных физиологических и биохимических подходов.

Методы исследований. В качестве объектов исследований было взято 3 сорта ячменя (*Triticum aestivum* L.) Шагала, Казахстанская-3, Казахстанская ранняя. Растения выращивались в гидропонных условиях с различным содержанием NaCl и меди (CuSO_4) и в факторостатных условиях при температуре 22°С днем и 18°С ночью, с 14-часовым фотопериодом. Растения выращивали 7 дней в растворах, содержащих различные концентрации NaCl, Cu (в виде соли CuSO_4). Опыты проводились в 6 вариантах: контроль, 50 мМ NaCl; 100 мМ NaCl; NaCl (50 мМ) + CuSO_4 (0,25 мМ).

Измерение биометрических показателей проводилось по общепринятым методикам. Растения расчленили на надземную часть и корни. Измеряли длину корней и надземных органов. Для определения сухой биомассы растения помещали в сушильный шкаф и сушили при температуре 105°С до постоянного веса, охлаждали до комнатной температуры и взвешивали [6,7]. Определение фотосинтетических пигментов проводили по методике Шлык [8]. Оптическую плотность измеряли с помощью спектрофотометра при длинах волн 665, 649 до 440,5 нм. Расчет содержания пигментов производили по формулам (формула Вернера):

$$\begin{aligned} C_A (\text{мг/л}) &= 11,63 \times D_{665} - 2,39 \times D_{649}, \\ C_B (\text{мг/л}) &= 20,11 \times D_{649} - 5,18 \times D_{665}, \\ C_A + C_B (\text{мг/л}) &= 6,45 \times D_{665} + 17,72 \times D_{649} \end{aligned}$$

Содержание каротиноидов определяли по формуле Веттштейна:

$$C_{\text{кар}} (\text{мг/л}) = 4,695 \times D_{440} - 0,268 \times (C_{\text{а+в}} \text{ мг/л});$$

Затем производили пересчет содержания пигментов на мг/г.

$$A = C \times V / P \times 1000$$

где А – содержание пигментов, мг/г; С – концентрация хлорофилла, мг/л; V – объем вытяжки, мл; P – навеска, г.

Относительное содержание воды (RWC) определяли в соответствии с Schonfeld et al., где сырую массу (FW) 20 дисков самых молодых полностью раскрытых листьев определяли в течение 2ч. после взятия пробы. Тургорную массу (TW) определяли после инкубации дисков в дистиллированной воде в течение 16-18 ч. Сухую массу (DW) определяли после высушивания дисков в сухо-воздушном шкафу при 70°C в течение 72 ч. RWC рассчитывали по формуле: $RWC = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100$. Данный метод позволяет оценить реальное содержание воды в отобранных образцах листьев относительно максимального содержания воды при полном тургоре. Нормальные значения RWC варьируют от 98 до 40% в увядающих и сильно высушенных листьях. В большинстве злаковых культур RWC при увядании листьев находится в пределах 60-70%.

Метод определения активности пероксидазы (POD) [6]. Для определения активности пероксидазы (ПОД) клетки гомогенизировали в среде, содержащей 0.05 М ацетатный буфер, pH 5.6. Оптимальное соотношение объема среды гомогенизации и навески растительных клеток составлял 10:1. Гомогенат центрифугировали 15 мин. при 14,000 об/мин. Осадок отбрасывали, а надосадочную жидкость («грубый экстракт») использовали для определения активности ПОД. Реакционная смесь содержала 0.05 М ацетатный буфер, 6.4 мМ раствор о-дианизидина, 15 мМ раствор перекиси водорода и экстракт ПОД (10-50 мг белка /мл). После быстрого перемешивания реагентов следили за изменением оптической плотности. Активность ПОД отмечали по начальной скорости окисления о-дианизидина при комнатной температуре при 460 нм на спектрофотометре. Скорость

реакции определяли по тангенсу угла наклона начальных участков кинетических прямых изменения оптической плотности во времени, согласно методу Лебедева и др.

Результаты исследований и их обсуждение. В условиях засоления у 7-дн. проростков ячменя различных сортов снижались линейный рост и биомасса надземных органов и корней. По росту надземных органов наиболее устойчивыми к действию высокой концентрации NaCl (100М) оказались сорта Казахстанская ранняя и Казахстанская-3, наименее – Мельтурн и Шагала. При этой концентрации рост надземных органов сортов Казахстанская ранняя и Казахстанская-3 снижался на 15 и 19% относительно контроля соответственно, у сортов Шагала и Мельтурн – на 47 и 72%, а накопление биомассы надземными органами у сортов Казахстанская ранняя и Казахстанская-3 снижалось на 12 и 25%, сорта Шагала – на 44%. По линейному росту надземных органов сорта можно расположить следующим образом: Казахстанская ранняя (85%) > Казахстанская-3 (81%) > Кайыр (69%) > Шагала (53%) > Мельтурн (28%) (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние NaCl на линейный рост ячменя по сортам

Варианты	Длина надземных органов		Длина корней	
	см	%	см	%
Казахстанская-3				
Контроль	15,85±0,68	100	5,8±1,70	100
NaCl - 50 мМ	17,00±1,74	107	7,8±0,65	134
NaCl - 100 мМ	12,90±1,51	81	5,1±0,85	88
Шагала				
Контроль	22,32±2,29	100	8,25±0,57	100
NaCl - 50 мМ	16,98±0,97	76	7,60±1,50	92
NaCl - 100 мМ	11,70±0,97	53	6,70±0,56	81
Мельтурн				
Контроль	15,18±1,47	100	5,7±8,05	100
NaCl - 50 мМ	15,80±4,34	104	5,5±1,89	97
NaCl - 100 мМ	4,30±1,24	28	4,6±0,75	81
Кайыр				
Контроль	25,25±1,26	100	9,10±0,7	100
NaCl - 50 мМ	21,32±2,95	84	8,70±1,1	96
NaCl - 100 мМ	17,43±1,03	69	8,05±0,7	88
Казахстанская ранняя				
Контроль	18,68±3,47	100	9,90±0,62	100
NaCl - 50 мМ	18,43±0,20	99	10,10±0,86	102
NaCl - 100 мМ	15,93±0,38	85	8,61±0,39	94

По накоплению биомассы надземных органов сорта располагаются в следующем порядке: Казахстанская ранняя (88%) > Казахстанская-3 (75%) = Кайыр (75%) > Шагала (56%) > Мельтурн (50%) (рисунок 1). Рост корней у сортов Казахстанская ранняя и Казахстанская-3 подавлялся в меньшей степени, чем у сорта Шагала и Мельтурн: у двух первых сортов рост и биомасса корней подавлялись на 6 и 20%, на 12 и 25%. Длина и биомасса корней у сорта Шагала подавлялись в наибольшей степени (на 19 и 34%, соответственно). По линейному росту корней ряд устойчивости может выглядеть таким образом: Казахстанская ранняя (94%) > Казахстанская-3 (88%) = Кайыр (88%) > Мельтурн (81%) = Шагала (81%). По накоплению биомассы корнями сорта располагаются следующим образом: Кайыр (90%) > Мельтурн (83%) > Казахстанская ранняя (80%) > Казахстанская -3 (75%) > Шагала (66%), (рисунок 2).

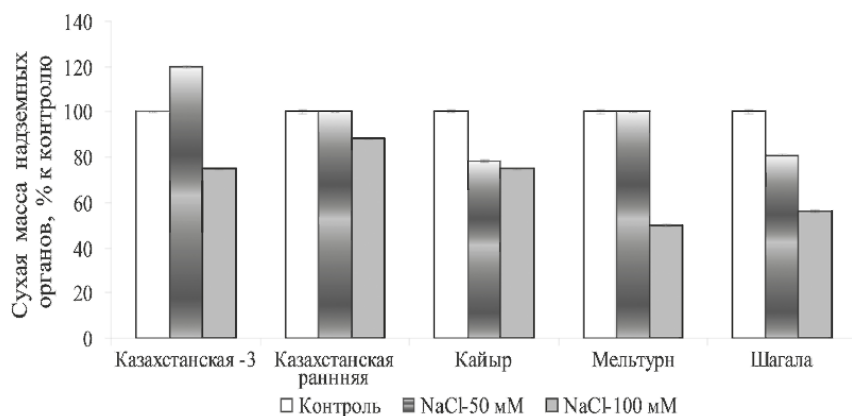


Рисунок 1 – Влияние NaCl на биомассу надземных органов 7-дневных проростков ячменя

Следует отметить, что рост корней и накопление биомассы корнями подавлялись в меньшей степени в условиях засоления по сравнению с надземными органами. Возможно, это вызвано с дегидратацией клеток при засолении. При засухе у растений могут срабатывать механизмы избегания стресса, в данном случае, дегидратации, удлинением корневой системы. Наибольшую устойчивость к засолению, судя по биомассе надземных органов, показали сорта Казахстанская ранняя и Казахстанская-3, наименьшую устойчивость – сорт Шагала

и Мельтурн. Сорта Мельтурн и Шагала были чувствительны к действию засоления. Сорта Казахстанская ранняя и Кайыр проявляли среднюю устойчивость к засолению (рисунок 3).

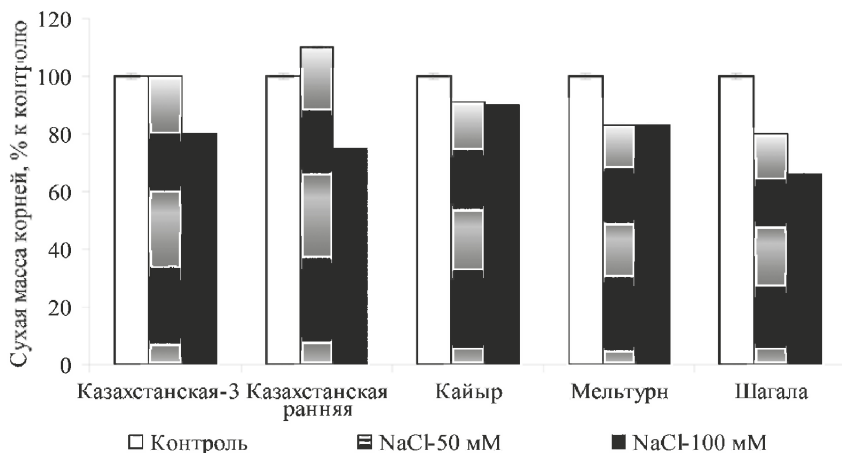


Рисунок 2 – Влияние NaCl на биомассу корней 7-дневных проростков ячменя



Рисунок 3 – Результаты исследования устойчивости сортов ячменя к действию засоления

Влияние совместного действия засоления и ионов меди на ростовые показатели сортов ячменя.

Для совместного действия были выбраны низкие концентрации обоих стрессоров, так как при других комбинациях вариантов растения очень плохо прорастали. При совместном действии засоления (NaCl - 50 мМ) и меди (0,25 мМ) рост растений значительно подавлялся по сравнению с отдельным действием указанных стрессоров. По линейному росту надземных органов

в условиях совместного действия засоления и ионов меди сорта можно расположить следующим образом: Казахстанская-3 (47%) > Казахстанская ранняя (42%) > Кайыр (36%) > Мельтурн (26%) > Шагала (22%) (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние совместного действия NaCl и CuSO₄ на линейный рост ячменя

Варианты	Длина надземных органов		Длина корней	
	см	%	см	%
Казахстанская-3				
Контроль	15,85+0,68	100	5,8+1,70	100
NaCl(0,25 мМ) + CuSO ₄ (50 мМ)	7,40+1,80	47	5,3+0,78	91
Шагала				
Контроль	22,32+2,29	100	8,25+0,57	100
NaCl(0,25 мМ) + CuSO ₄ (50 мМ)	4,85+2,13	22	3,35+0,47	41
Мельтурн				
Контроль	15,18+1,47	100	5,70+8,05	100
NaCl(0,25 мМ) + CuSO ₄ (50 мМ)	3,95+1,20	26	2,85±7,06	50
Кайыр				
Контроль	25,25+1,26	100	9,1+0,7	100
NaCl(0,25 мМ) + CuSO ₄ (50 мМ) - 100 мМ	9,10+1,39	36	4,5+0,6	49
Казахстанская ранняя				
Контроль	18,68+3,47	100	9,9+0,6	100
NaCl(0,25 мМ) + CuSO ₄ (50 мМ)	7,80+1,36	42	3,5+0,3	42

По линейному росту надземных органов наиболее устойчивыми оказались растения Казахстанская-3 и Казахстанская ранняя, рост надземных органов подавлялся у данных сортов на 53 и 58%. Наиболее чувствительны оказались сорта Мельтурн и Шагала, рост их надземных органов подавлялся на 74 и 78% соответственно. По накоплению биомассы надземными органами сорта располагаются в следующем порядке: Казахстанская ранняя (53%) > Казахстанская -3 (50%) > Кайыр (41%) > Мельтурн (33%) > Шагала (32%).

Рост корней в наименьшей степени подавлялся у сорта Казахстанская-3 (на 9%), в наибольшей степени - у сортов Казахстанская

ранняя (на 58%) и Шагала (на 59%). По линейному росту корней сорта расположились в следующем порядке: Казахстанская -3 (91%) > Мельтурн (50%) > Кайыр (49%) > Казахстанская ранняя (42%) > Шагала (41%). Накопление биомассы корнями в данных условиях снижалось в следующем порядке: Казахстанская-3 (75%) = Кайыр (75%) > Казахстанская ранняя-3 (40%) > Мельтурн (33%) > Шагала (20%).

Таким образом, по накоплению биомассы надземными органами Казахстанская ранняя и Казахстанская-3 оказались более устойчивыми к совместному действию меди и засоления, а Шагала и Мельтурн – наиболее чувствительными. По характеру действия на ростовые параметры растений ячменя данные стрессоры различались между собой. В наибольшей степени от действия меди пострадали надземные органы и корни. При засолении в наибольшей степени страдали надземные органы по сравнению с корнями. Совместное действие меди и засоления усугубляло негативный эффект раздельного действия стрессоров при тех же концентрациях.

Выводы.

1. Относительное содержание воды в листьях ячменя в условиях раздельного и совместного влияния ионов тяжелых металлов (Cu) и засоления (NaCl) уменьшалось. У устойчивых сортов ячменя данный показатель оставался на уровне контроля или снижался в меньшей степени по сравнению с неустойчивыми, что указывает на то, что относительное содержание воды является одной из главных предпосылок устойчивости растений в условиях стресса;

2. Содержание фотосинтетических пигментов – хлорофиллов а и b, каротиноиды, снижалось в ответ на действие стрессоров;

3. У устойчивых сортов ячменя защитная адаптационная реакция в ответ на действие засоления и меди (повышение активности антиоксидантных ферментов, полиаминов, стрессовых аминокислот) выражалась в большей степени по сравнению с неустойчивыми, что позволяет использовать их как интегральные показатели устойчивости растений;

4. Совместное действие меди и засоления усугубляет раздельное действие обоих стрессоров за счет усиления осмотического стресса, и вследствие этого, наблюдается высокий уровень дегидратации (RWC) и токсического действия засоления (NaCl) и ионов тяжелых металлов;

5. Можно предположить, что растения, устойчивые к действию засоления (NaCl), покажут устойчивость и к действию меди. Устой-

чивые к засолению сорта ячменя показывают устойчивость к ионам меди;

6. Если сравнивать совместное действие двух стрессоров с их действием в отдельности, то можно отметить, что совместное действие засоления и ионов меди в основном усугубляет негативный эффект ионов меди, но накопление биомассы при совместном действии подавляется в большей степени по сравнению с действием засоления в отдельности. Например, у устойчивых видов Казахстанская ранняя и Казахстанская-3 накопление надземной биомассы подавлялось при действии засоления на 12 и 25%, соответственно, а при совместном действии – на 48 и 50%. У чувствительных сортов наблюдалась такая же картина – накопление биомассы надземных органов у сортов Мельтурн и Шагала при действии засоления в отдельности подавлялось на 50 и 44%, а при совместном действии – на 67 и 68% у обоих сортов.

Таким образом, сорта Казахстанская-3 и Казахстанская ранняя оказались устойчивыми к совместному действию меди и засоления. Сорта Мельтурн и Шагала были наиболее чувствительными к действию данных стрессоров. Сорт Кайыр проявил среднюю устойчивость.

Список литературы

1 Радюк М.С., Будакова Е.А., Шалыго Н.В. Влияние катионов кадмия и свинца на общий пул тиолов в зеленых листьях ячменя // Вестник НАН Белоруссии. Серия биологическая. – 2007. – № 3. – С. 61-65.

2 Алехина Н.А., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. Физиология растений. / под ред. И.П. Ермакова. – М., 2007. – 640 с.

3 Леонова Т.Г, Гончарова Э.А., Ходоренко А.В., Бабаков А.В. Солеустойчивые и солечувствительные сорта ячменя и их характеристика // Физиол. раст. 2005. – Т. 52. – С. 876-881.

4 Ершов П.В., Решетова О.С., Трофимова М.С., Бабаков А.В. Активность ионных транспортеров и солеустойчивость ячменя // Физиол. раст. 2005. – Т. 52. – С. 867-875.

5 Веселов Д.С., Шарипова Г.В., Кудоярова Г.Р. Сравнительное изучение реакции растений ячменя (*Hordeum vulgare*) и пшеницы (*Triticum durum*) на кратковременное и длительное действие натрий хлоридного засоления // Агрехимия. 2007. №7. С. 41-48.

6 Новиков, Н.Н. Новый метод определения активности пероксидаз в растениях / – Электрон. текстовые дан. // Известия Тими-

рязевской сельскохозяйственной академии: Научно-теоретический журнал Российского государственного аграрного университета - МСХА имени К.А. Тимирязева, 2016. – Вып. 3 — с.36-46. URL:<http://elib.timacad.ru/dl/full/03-2016-3.pdf>.

7 Башмаков Д.И. Эколого-физиологические аспекты аккумуляции и распределения тяжелых металлов у высших растений / Д.И. Башмаков, А.С. Лукаткин; под ред. А.С.Лукатина. – Саранск: Изд-во Мордов. Ун-та, 2009. -236 с.

8 Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев// Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. С. 154-171.