

ОЦЕНКА СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ ПОЛЕВЫХ КУЛЬТУР

Стаценко А.П., Блинохватов А.А.

Разработан новый метод оценки солеустойчивости сельскохозяйственных растений. В качестве критерия устойчивости предлагается использовать степень накопления аминокислоты пролина в 10-суточных проростках, выращенных в термостате при температуре 25-28 °С, на увлажнённой 0,5-молярном растворе хлористого натрия многослойной фильтровальной бумаге с последующим вычислением коэффициентов солеустойчивости, которые выражаются отношением концентрации аминокислоты в проростках, выращенных на солевом растворе к контролю. При этом выделяется три группы растений: высокоустойчивые к засолению (коэффициент солеустойчивости 3,0 и выше); среднеустойчивые (2,0-2,9); слабоустойчивые (1,9 и ниже). К группе высокоустойчивых к засолению отнесены: подсолнечник, ячмень, сахарная свёкла, тритикале, горчица, рожь; к группе среднеустойчивых – рис, овёс, просо, кукуруза; слабоустойчивых – горох, озимая пшеница, фасоль, бобы, лён, сорго, люпин, гречиха, соя. Новый метод позволяет оперативно и объективно оценивать солеустойчивость видов, сортов и селекционных линий полевых культур.

Ключевые слова: сельскохозяйственные культуры, проростки, солеустойчивость, аминокислота пролин.

Введение

Большой ущерб мировому сельскохозяйственному производству наносит засоленность почв, в которых содержание солей (в основном, хлоридов и сульфатов) превышает 0,25% по массе. На нашей планете 25% почв избыточно засолены. В Российской Федерации засоленные почвы занимают 36 млн. га, что составляет 18% общей площади орошаемых земель. Эти почвы широко распространены на юго-востоке европейской части страны. Значительные площади засоленные почвы занимают в Поволжье. Известно, что процесс засоления усиливается при орошении земель. Это является настоящим бедствием в Среднем Поволжье, где 6% пашни засолены и 17% осолонцованы [1].

Важнейшей научной проблемой является разработка объективных диагностических приёмов оценки солеустойчивости сельскохозяйственных растений. Наиболее перспективным направлением решения этой проблемы является совершенствование методов сравнительной оценки солеустойчивости, когда в качестве стандарта используется сорт растений с высокой солеустойчивостью. Причем сравнительные методы допустимо использовать при оценке солеустойчивости растений близких систематических групп, желательна в пределах одного вида.

Методы диагностики солеустойчивости растений приобретают, в последнее время, большое значение в селекционной и семеноводческой отраслях. Причем отбор семян солеустойчивых растений должен проводиться среди форм, отличающихся наибольшей урожайностью на засоленных почвах.

Перспективным направлением оценки соле-

устойчивости растений является проращивание семян на засоленных субстратах [9]. Однако существенным недостатком этого метода является то, что он позволяет оценить солеустойчивость растений только в начальные фазы их развития. Между тем для полного представления о процессе необходима оценка солеустойчивости растений в процессе всего онтогенеза. Дело в том, что солеустойчивость в растениях существенно меняется в зависимости от фаз их развития.

Заслуживает внимания метод определения солеустойчивости растений по интенсивности разрушения хлорофилла в листьях, размещенных черешками в растворах солей. В основе этого метода лежит наличие устойчивой связи системы «хлорофилл-белок» у растений, обладающих высокой солеустойчивостью. Показателем степени оценки солеустойчивости растений является быстрота появления солевых пятен вследствие разрушения хлорофилла под влиянием солей. Причем у солеустойчивых форм распад хлорофилла начинается позже и протекает менее интенсивно.

Известен также микроскопический метод определения солеустойчивости, оценочным показателем которого является скорость и размер появления пятен от солевых ожогов на листьях растений, помещенных на 30 минут черешками в 0,1 М раствор сернокислого натрия. Кроме того разработан метод оценки солеустойчивости, предусматривающий подсчет плазмолизированных клеток после погружения на два часа срезов эпидермиса листьев растений в 0,1 М растворе хлористого натрия.

В последнее время разработаны прямые и косвенные методы определения солеустойчивости растений, предусматривающие оценку урожайно-

Таблица 1 – Оценка солеустойчивости полевых растений различных систематических групп

Культура	Традиционный метод	Новый метод		Коэффициент солеустойчивости
	Прорастание семян в солевом растворе	Содержание пролина, мг%		
		контроль	опыт	
Подсолнечник	83	14	78	5,6
Ячмень	80	13	54	5,3
Сахарная свёкла	76	10	46	4,6
Тритикале	84	10	40	4
Горчица	71	13	51	3,9
Рожь	66	11	31	3,7
Рис	63	15	41	2,7
Овёс	62	15	38	2,5
Кукуруза	59	14	32	2,3
Просо	54	13	24	2
Горох	46	16	29	1,8
Озимая пшеница	50	15	26	1,7
Фасоль	43	15	26	1,7
Бобы	40	14	21	1,5
Лён	47	13	20	1,5
Сорго	45	14	20	1,4
Люпин	38	16	22	1,4
Гречиха	42	15	20	1,4
Соя	36	13	16	1,2

сти и продуктивности, скорости протекания физиологических и биохимических процессов в вегетативных и генеративных органах. В данном случае основным показателем степени солеустойчивости растения семян, интенсивности плазмолиза клеток, скорости выцветания хлорофилла в листьях проростков, помещенных в солевые растворы [3,5,6]. Однако названные методы не всегда являются объективными, так как скорость прорастания, всхожесть семян зависит не только от солеустойчивости, но и в значительной степени от состояния зародыша, семенных оболочек, глубины покоя семян и др. Кроме того некоторые из них трудоемки и долгосрочны в исполнении.

Широко применяется метод оценки солеустойчивости по прорастанию семян в солевых растворах [3]. Основным показателем устойчивости в данном случае является процент проросших семян за период времени от 5 до 15 суток в условиях засоления по сравнению с водным контролем. Однако практическое использование этого метода ограничено в связи с тем, что обязательным условием его исполнения является высокая лабораторная всхожесть семян. Кроме того, семенной материал, используемый для проращивания, должен быть выращен в одних природно-климатических и погодных условиях, что на практике не всегда возможно. Наряду с этим имеются сведения о том, что аминокислота пролин сочетается в себе защитные (в частности, солезаститные) свойства со способностью накапливаться в вегетативных органах растений

в условиях стресса, в частности, засоления [2, 4, 7, 8,10]. В связи с этим степень накопления свободного пролина в вегетативных органах (проростках) предлагается нами использовать в диагностике солеустойчивости культурных растений.

Цель исследований – изучить влияние засоления почвы на содержание аминокислоты (пролина) в листьях сельскохозяйственных культур и разработать метод оценки солеустойчивости растений.

Объекты и методы исследований

В качестве объекта исследования использовали десятисуточные проростки зерновых, крупяных, масличных и бобовых культур, которые подвергали стрессовому воздействию – засолению.

Предварительно из партии семян испытуемых растений отбирают пробы по 50–100 семян в каждой. Затем семена в течение получаса замачивали в теплой (30–35 °С) воде и проращивали в термостате в течение 10 суток в растительных на увлажненной многослойной фильтровальной бумаге при температуре 25–28 °С. Контрольную пробу проращивали на ложе, увлажненном водой, а испытуемые – на 0,5-молярном растворе хлористого натрия. После проращивания в проростках контрольных и испытуемых образцов определяли содержание свободного пролина по методике Бэйтса [10]. С этой целью 0,5 г растительного материала измельчали с помощью гомогенизатора, можно растирать в ступке с кварцевым песком в 10 мл 3%-ного раствора

сульфосалициловой кислоты. Затем 2 мл отфильтрованного через плотный бумажный фильтр гомогената смешивали с 2 мл кислого нингидрина и 2 мл ледяной уксусной кислоты. Кислый нингидрин готовили предварительно, за сутки до проведения анализа, путем кипячения 1,25 нингидрина в 30 мл ледяной уксусной кислоты и 20 мл ортофосфорной кислоты до полного растворения. Смесь выдерживали в пробирках в течение часа на водяной бане при 100 °С. Реакцию ограничивали охлаждением в ледяной бане, после чего в каждую пробирку приливали по 4 мл толуола (или бензола) и энергично взбалтывали в течение 15–20 секунд до полного обесцвечивания смеси. После 15-минутного отстаивания хромофор (окрашенный верхний слой) оценивали на фотоэлектроколориметре (ФЭК-56М) на плотность окрашивания. Абсорбцию измеряли на синем светофильтре при длине волны 520 нм. В качестве контроля использовали толуол или бензол.

Результаты и их обсуждение

Содержание свободного пролина в образцах определяли по стандартной кривой и рассчитывали в мг% на сырую массу. Стандартную кривую строили на базе растворов фабричного препарата пролина различных концентраций. После этого проводили расчет коэффициентов солеустойчивости,

на основе которых выделяли три группы растений: высокоустойчивые к солевому стрессу (коэффициенты солеустойчивости 3,0 и выше); среднеустойчивые (2,0–2,9); слабоустойчивые (1,9 и ниже).

В таблице 1 приводятся результаты сравнительной оценки солеустойчивости полевых растений различных систематических групп.

Анализ показывает, что содержание свободного пролина в проростках испытываемых культур и вычисленные на его основе коэффициенты солеустойчивости позволяют более детально дифференцировать испытываемые растения по уровню устойчивости к засолению.

Выводы

В результате оценки выделены три группы растений: высокоустойчивые к солевому стрессу (подсолнечник, ячмень, сахарная свекла, тритикале, горчица, рожь); среднеустойчивые (рис, овес, кукуруза, просо); слабоустойчивые (горох, озимая пшеница, фасоль, бобы, лён, сорго, люпин, гречиха, соя)

При оценке солеустойчивости селекционного материала рекомендуется использовать сорта-дифференциаторы с известной степенью солеустойчивости, что позволит селекционеру проводить выбраковку слабоустойчивых линий.

Список литературы

- [1] Вальков, В. Ф. Засоление почв/В.Ф.Вальков, К. Ш. Казеев, С. И. Колесников// Ростов на Дону.: Феникс. 2014.– 165с.
- [2] Бритиков, Е. А. Биологическая роль пролина в растениях/Е.А. Бритиков// М.: Наука. 1975.– 88с.
- [3] Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям/под ред. Г.В. Удовенко// Л. 1988.– 228с.
- [4] Кузнецов, Е. А. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм и регуляция/Е.А.Кузнецов, Н. И. Шевяков// Физиология растений. 1999. т. 4. Вып.2. С. 305–320.
- [5] Методика диагностики устойчивости растений / под ред. Г.В. Удовенко.– Л.,1970.– 74 с.
- [6] Методические указания при использовании вегетационных методов при изучении солеустойчивости однолетних сельскохозяйственных растений.– Л.,1977.– 20.
- [7] Рубин, Б. А. Физиология растений.– 4-е изд., перераб. и доп.– М.: Высшая школа, 1976.– 576 с.
- [8] Савицкая Н. Н. О биологической роли пролина в растениях // Доклады Высшей школы.– 1976.– № 2.– С. 49–61.
- [9] Физиология сельскохозяйственных растений / под ред. Б. А. Рубина.– М.,1967.– 411 с.
- [10] Bates L. S. Woldren R. P. Teare G. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant and soil. 1973. T.39. No 1. P. 105–107.
- [11] Shobert B. F. Schesche H. Unusal solution properties of proline and its interaction with proteins // Biochem. et biophys. acta. 1978. T. 541. No 2. P. 1341–1344.

ASSESSMENT OF THE SALT RESISTANCE OF FIELD CULTURES

Statsenko A.P., Blinokhvatov A.A.

A new method for assessing the salt tolerance of agricultural plants has been developed. As a criterion of stability, it is proposed to use the degree of accumulation of the amino acid of proline in 10-day-old seedlings grown in a thermostat at a temperature of 25-28°C on a saturated 0.5-molar solution of sodium chloride multilayer filter paper, followed by subtraction of the coefficients of stability, which are expressed by the ratio of the concentration of amino

acids in seedlings grown on saline to control solution. In this case, three groups of plants are distinguished: highly resistant to salinization (salt tolerance coefficient 3.0 and higher); medium-resistant (2.0-2.9); weakly resistant (1.9 and below). The group of highly resistant to salinization includes: sunflower, barley, sugar beet, la, triticale, mustard, rye; to the group of moderately resistant - rice, oats, millet, corn; poorly tolerant - peas, winter wheat, beans, bo, flax, sorghum, lupine, buckwheat, soy. The new method allows us to promptly and objectively assess the salt resistance of species, varieties and breeding lines of field crops.

Keywords: *agricultural crops, seedlings, salt-resistance, amino acid proline.*

References

- [1] Val'kov, V.F. Salinization/Val'kov V. F., Kazeev K. sh., Kolesnikov S.I.// Rostov-on-don.: Phoenix. 2014.– 165 p.
- [2] Britikov, E. A. Biological role of Proline in plants/E. A. Britikov// M.: Science. 1975.– 88 p.
- [3] Diagnostics of plant resistance to stress factors/ed. by G. V. Udovenko// L. 1988.– 228 p.
- [4] Kuznetsov, E.A. Prolin under stress: biological role, metabolism and regulation/E. A. Kuznetsov, N. So. Shevyakov// plant Physiology. 1999. vol. 4. Issue.2. P. 305–320.
- [5] The technique of diagnostics of plant resistance / ed. by G. V. Udovenko.– L.,1970.– 74 p.
- [6] Guidelines for the use of vegetation methods in the study of salt tolerance of annual agricultural plants.– L., 1977.– 20.
- [7] Rubin, B.A. plant Physiology.– 4th ed., pererab. I DOP.–M.: Higher school, 1976.– 576 p.
- [8] Savitskaya N.N. On the biological role of Proline in plants // Reports of Higher school.– 1976.– № 2.– P. 49–61.
- [9] Physiology of agricultural plants / ed. B. A. Rubin.– M.,1967.– 411 p.
- [10] Bates L. S. Woldren R. P. Teare G. D. Rapid determination of free proline fer water-stress studies // Plant and soil. 1973. T. 39. No. 1. P. 105–107.
- [11] Shobert B. F. Schesche H. Unusal solution properties of proline and its interaction with proteins // Biochem. et biophys. acta. 1978. T. 541. No. 2. P. 1341–1344.