

**Поморцев
Анатолий Владимирович**

**Физиологические и биохимические процессы, определяющие
зимостойкость озимых зерновых культур
в условиях Восточной Сибири**

03.01.05 – физиология и биохимия растений

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Иркутск – 2013

Работа выполнена в Федеральном Государственном бюджетном учреждении науки Сибирском институте физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск

Научный руководитель:

кандидат биологических наук

Дорофеев Николай Владимирович

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук,
профессор

Боровский Геннадий Борисович

доктор сельскохозяйственных
наук, профессор

Сагирова Роза Агзамовна

Ведущая организация:

ФГБОУ ВПО Государственный аграрный университет Северного Зауралья

Защита диссертации состоится «18» декабря 2013 г. в 15⁰⁰ ч. на заседании диссертационного совета Д 003.047.01 при Федеральном Государственном бюджетном учреждении науки Сибирском институте физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН по адресу: 664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, а/я 317. Факс (3952) 510754; e-mail: matmod@sifibr.irk.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального Государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН.

Автореферат разослан « » ноября 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
Д 003.047.01
кандидат биологических наук



Г.П. Акимова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Одно из основных направлений исследований в современной физиологии растений – устойчивость организмов к неблагоприятным факторам среды (Трунова, 2007; Theocharis et al., 2012). Важным аспектом этих исследований является изучение адаптации растений и поддержание ими устойчивого состояния на протяжении длительного действия стрессовых факторов. Проблема морозостойкости и зимостойкости особенно актуальна в связи с широким использованием озимых растений в сельскохозяйственной практике. Повреждение и даже гибель посевов этих культур оказывает существенное влияние на эффективность сельскохозяйственного производства. Зимостойкости растений, особенно зерновых культур, всегда уделялось повышенное внимание исследователями нашей страны и за рубежом.

Было показано, что адаптация растений к условиям зимнего периода вызывает многочисленные перестройки в метаболизме растений и связана с их видовыми и сортовыми особенностями. Установлено, что эти процессы тесно сопряжены с условиями и продолжительностью осеннего роста и развития растений, а также действием факторов абиотической природы (Mahajan, Tuteja, 2005; Mittler and Blumwald, 2010; Kosova et al., 2013).

Выживаемость растений при неблагоприятных факторах окружающей среды зависит от устойчивости отдельных органов, например, узла кушения, который во многом определяет перезимовку всего растения. Поэтому возникает необходимость в более детальном исследовании особенностей формирования зимостойкости растений в полевых экспериментах, которые до сих пор ещё недостаточно исследованы. Изучение морозостойкости и зимостойкости растений в природно-климатических условиях Восточной Сибири, где основным повреждающим агентом зимовки является очень низкая температура при невысоком снежном покрове или его отсутствии, позволяет оценить влияние именно этого фактора на выживаемость растений. Что даёт возможность расширить знания о зимостойкости озимых зерновых культур и изучить физиологические и биохимические изменения, происходящие в растениях на протяжении длительного действия повреждающих факторов.

Недостаточная изученность физиолого-биохимических процессов, протекающих в растениях озимых злаков в период зимовки, а также отсутствие таких данных для тритикале позволили сформировать цель и задачи работы.

Цель и задачи исследования. Цель настоящей работы состояла в выявлении физиологических и биохимических параметров зимостойкости озимой пшеницы, озимой ржи и озимого тритикале в условиях Восточной Сибири.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Оценить относительную лабораторную морозостойкость и полевую зимостойкость озимых зерновых культур (пшеница, рожь, тритикале).
2. Определить состав дегидринов узлов кущения озимого тритикале и других зерновых культур в начале зимнего периода и характер качественных изменений в составе этих белков на протяжении зимовки растений.
3. Рассмотреть накопление сахаров и свободного пролина в узлах кущения растений озимых культур и изменение их содержания в течение зимовки.
4. Изучить интенсивность дыхания узлов кущения озимых злаков в осенне-весенний период.
5. Установить жирнокислотный состав узлов кущения озимых культур в начале зимнего периода.

Положение, выносимое на защиту:

У озимых (пшеницы, ржи и тритикале) реализуется сходный механизм формирования зимостойкого состояния к началу зимовки, отличающийся по отдельным количественным и качественным показателям, что ярко проявляется на протяжении зимы и, особенно, на последнем этапе зимовки растений. Разница в выраженности этих показателей определяет разный уровень зимостойкости исследованных культур.

Научная новизна работы. Проведено сравнительное изучение отдельных физиолого-биохимических показателей, определяющих устойчивость во время зимовки трёх видов наиболее распространённых озимых зерновых культур. Особое внимание было уделено определению накопления дегидринов (специфических защитных белков), водорастворимых углеводов, свободного пролина, интенсивности дыхания узлов кущения и их жирнокислотного состава. Впервые определён качественный состав дегидринов в узлах кущения трёх озимых зерновых культур в течение зимовки, наибольшее количество которых было обнаружено в начале зимы. Выявлено 11 ранее не показанных дегидринов, 8 из них присутствуют постоянно у всех изучаемых культур, а 3 обнаруживаются только в начале зимнего

периода. Впервые обнаружены новые группы дегидринов с малой молекулярной массой (6,6; 6,5 и 5,9 кДа). Особенностью состава дегидринов узлов кущения озимой ржи является наличие на протяжении всей зимы белка с молекулярной массой 55,3 кДа, а для озимого тритикале белка 29 кДа. Выдвинуто предположение, что присутствие этих белков может определять более высокую зимостойкость озимой ржи и тритикале по сравнению с озимой пшеницей. Показано, что в течение зимовки растений происходит снижение содержания выявленных дегидринов и самое низкое их количество отмечено в конце зимы у озимой пшеницы. Концентрация свободного пролина в узлах кущения озимых зерновых культур имеет два ярко выраженных пика в начале и конце зимовки растений. Уровень пролина в конце зимы различался в зависимости от видовой принадлежности растений. Максимальное количество его было у высоко зимостойкой озимой ржи и минимальное у менее зимостойкой озимой пшеницы. Низкое относительное содержание моноеновых и высокое содержание ди- и триеновых групп в составе ненасыщенных жирных кислот липидов узлов кущения озимой ржи и тритикале в начале зимнего периода обеспечивает их большую устойчивость к низким отрицательным температурам, по сравнению с озимой пшеницей.

Количество углеводов в узлах кущения у озимых зерновых культур в начале зимы определялось видовой принадлежностью, наименьшее содержание было у озимого тритикале. Установлено, что быстрый расход сахаров сопряжен с повышением интенсивности дыхания в узлах кущения и наиболее ярко это проявлялось у озимой пшеницы.

Таким образом, показано, что у озимой пшеницы, ржи и тритикале формируется сходный механизм зимостойкого состояния, который отличается по отдельным количественным и качественным показателям (дегидрины, пролин, жирнокислотный состав, сахара и дыхание). Это более ярко проявляется в конце зимнего периода. Совокупность полученных результатов свидетельствует, что именно эти отличия и определяют различный уровень зимостойкости исследуемых культур.

Научно-практическая значимость. Полученные данные вносят существенный вклад в понимание механизмов зимостойкости озимых зерновых культур (рожь, пшеница и тритикале). Основными показателями, обеспечивающими более высокую зимостойкость растений озимой ржи и озимого тритикале являются качественный состав дегидринов (белки с молекулярной массой 55,3 кДа – рожь и

29 кДа – тритикале), низкая интенсивность дыхания и расхода сахаров, высокий уровень содержания свободного пролина в конце зимы.

Полученный экспериментальный материал открывает перспективы для дальнейших исследований в области морозостойкости и зимостойкости растений, а также может быть использован селекционерами при создании новых высокозимостойких сортов. Результаты работы позволяют рекомендовать тритикале для сельскохозяйственного производства как зимостойкую культуру в Восточной Сибири.

Материалы диссертации могут быть включены в курсы лекций по экологии и физиологии растений, использоваться в профильных научно-исследовательских институтах РАН.

Публикации и апробация работы. По материалам диссертации опубликованы 2 статьи в периодических изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Результаты исследования по теме диссертации были представлены в устных докладах на V Международной научно-практической конференции «Новейшие направления аграрной науки в работах молодых учёных» (Новосибирск, 2012); Международной заочной научно-практической конференции «Проблемы науки, техники и образования в современном мире» (Липецк, 2012); Международной научно-практической конференции молодых учёных «Научные исследования и разработки к внедрению в АПК» (Иркутск, 2013), также на научной сессии СИФИБР СО РАН (Иркутск, 2011).

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, заключения, выводов и списка литературы (267 источников, в том числе 70 российских и 198 иностранных). Работа изложена на 154 страницах, содержит 26 рисунков и 2 таблицы.

Личное участие автора в получении научных результатов. Автор лично принимал участие в планировании и проведении экспериментов, в статистической обработке и интерпретации полученных результатов, а также в написании статей, опубликованных по результатам работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на узлах кущения трех озимых культур: пшеница (*Triticum aestivum* L.) сорт Иркутская; рожь (*Secale cereale* L.) сортообразец № 21; тритикале (\times *Triticosecale hexaploidii* (derzhavinii) Kurk. et Filat.) сортообразец № 430-6002 и тритикале сорта Сирс 57. Полевые исследования проводили с 2010 по 2013 гг. Для определения относительной морозостойкости использовали проростки озимых культур.

Относительную морозостойкость проростков растений озимых культур определяли в лабораторном эксперименте методом Г.А. Самыгина (1967). В период перезимовки состояние растений оценивали методом отбора монолитов (Третьяков и др., 2003).

Водорастворимую фракцию белков получали методом дифференциального центрифугирования. Термостабильные белки отделяли от суммарных после кипячения (20 мин.). Электрофорез белков проводили по методу Лэммли (1970), используя прибор для электрофореза Mini-PROTEAN III (“BIO-RAD”, США). Белки переносили на нитроцеллюлозную мембрану («Amersham», США) и обрабатывали первичными антителами против дегидринов (от Т.Д. Close, США), а затем вторичными антителами, конъюгированными с щелочной фосфатазой. Содержание свободного пролина проводили по методу Бейтса (Bates, 1973). Для определения общего содержания в растительных тканях водорастворимых сахаров использовали антроновый метод (Дише, 1967). Определение интенсивности дыхания проводили полярографически с платиновым электродом закрытого типа (электрод Кларка) в ячейке объемом 1,4 мл на полярографе ОН-105 (Венгрия) при 26 °С (Трушанов, 1973). Узлы кущения (50 мг сырого веса) предварительно инфильтровали с помощью шприца (Александров, 1954) в растворе насыщенного кислородом буфера (100 мМ Трис-НСl, рН 9,5) и 0,5 мМ фениметилсульфонилфлюорида (ФМСФ) с добавлением или без добавления ингибиторов дыхания, чтобы позволить кислороду и ингибиторам проникнуть в ткань (Mizuno et al., 2008). Для ингибирования цитохромного пути дыхания использовали 0,8 мМ KCN, для ингибирования альтернативного пути дыхания - 2 мМ бензгидроксамовую кислоту (БГК). Такие же концентрации ингибиторов добавляли в ячейку полярографа. Поглощение кислорода, оставшееся после добавления KCN и БГК, считали неспецифическим и не принимали в расчет дыхательной активности. Интенсивность дыхания выражали в нмоль O₂/мин/г сырого веса. Экстракцию липидов проводили по стандартному

методу (Bligh and Dyer, 1959). Липиды экстрагировали смесью хлороформ-метанол-вода в соотношении (2:1:0,8 v/v/v), содержащей 0,001% антиоксидант (ионол). Для анализа суммарных липидов отделяли хлороформную фракцию. Метилловые эфиры ЖК получали по методу Роузера (Christie, 1993). Дополнительную очистку метиловых эфиров ЖК проводили методом ТСХ на стеклянных пластинках с силикагелем КСК (Россия) в камере с бензолом. Анализ метиловых эфиров ЖК проводили методом газожидкостной хроматографии с использованием хромато-масс-спектрометра 5973N/6890N MSD/DS Agilent Technologies (США). Относительное содержание ЖК определяли в весовых процентах от общего их содержания в исследуемом образце.

Статистическая обработка экспериментальных данных проведена с использованием параметрических методов, оценки дескриптивных статистик и проверки нормальности распределения. Нормальность распределения проверяли методами Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилко. Для оценки различий между отдельными показателями использовали дисперсионный анализ и метод множественных сравнений Шеффе (Лапач и др., 2001). Средние значения показателей приводятся в виде $M \pm m$, где M – среднее, m – ошибка среднего. Статистически значимыми приняты различия по величине уровня значимости P , не превышающие 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Относительная морозостойкость проростков озимых злаков в лабораторных экспериментах

Промораживание проростков при температуре минус 7 °С не выявило значимых отличий в относительной морозостойкости исследуемых злаков (рис. 1). Выживаемость проростков после промораживания была близка к 100% у всех культур. Устойчивость проростков при температуре минус 10, 12 и 14 °С снизилась у всех изучаемых культур и наиболее сильно у озимой пшеницы. Температура минус 16 °С привела к гибели более 50% проростков всех культур. При дальнейшем снижении температуры промораживания до минус 20 °С в живых осталось не более четверти проростков у всех исследуемых культур. Экстраполяция полученных данных позволила вычислить LT_{50} при промораживании проростков для ржи – минус 15,7 °С, для пшеницы – минус 14,6 °С и для тритикале – минус 15,2 °С.

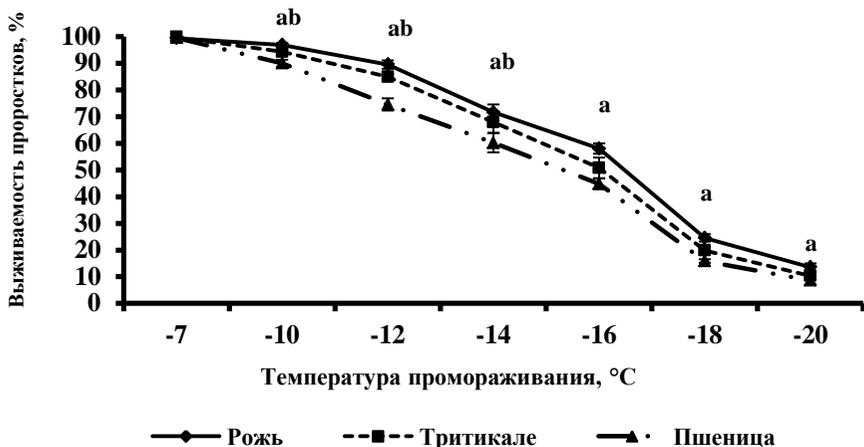


Рис. 1. Морозостойкость проростков пшеницы, ржи и тритикале. $n=15$, $M\pm m$
 а-рожь отличается от пшеницы; б-тритикале отличается от пшеницы-различия статистически значимы при $p \leq 0,05$

Проведённые исследования показали, что наиболее морозостойкими оказались озимая рожь (сортообразец № 21) и озимое тритикале (сортообразец № 430-6002) в сравнении с озимой пшеницей сорта Иркутская.

2. Зимостойкость озимых злаков в полевых условиях

В годы проведения исследований (2010-2013 гг.) процент живых растений при отборе монолитов в январе был очень высок у всех трёх культур (от 93 до 100%). Количество живых растений в феврале было ниже, у озимой ржи 90-93%, озимого тритикале 83-93% и у озимой пшеницы 60-80%.

В марте наблюдали значительную гибель растений слабоморозостойких культур, таких как озимая пшеница. У озимой ржи вне зависимости от сроков отбора проб во время зимовки выживаемость растений находится приблизительно на одном уровне. Значимых различий в зимостойкости озимой ржи и озимого тритикале обнаружено не было. В среднем за три года наблюдений выживаемость растений озимой ржи составила 95,8%, озимого тритикале – 88,9%. У озимой пшеницы выживаемость была самой низкой и в среднем не превышала 50,8% (рис. 2).

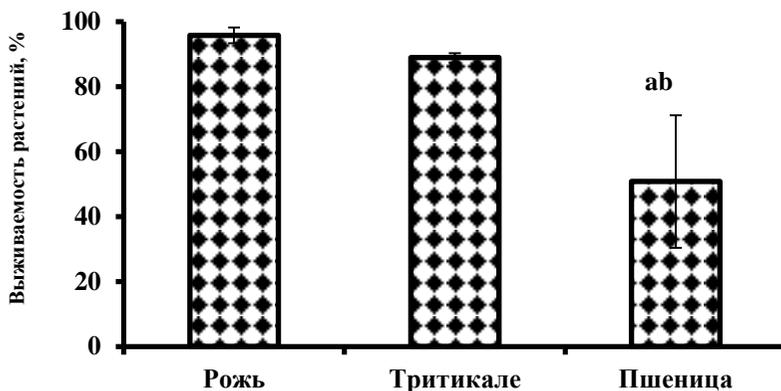


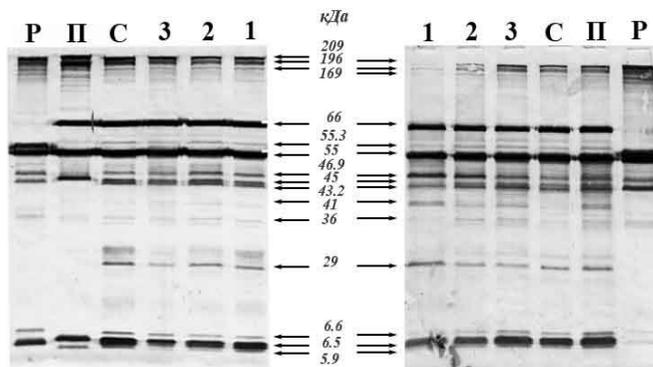
Рис. 2. Выживаемость растений в среднем за три года (2010-2013 гг.). $n = 3$, $M \pm m$
 a-рожь отличается от пшеницы; b-тритикале отличается от пшеницы-различия статистически значимы $p \leq 0,05$

Наблюдения за состоянием растений в течение зимовки позволяют сделать вывод о том, что основная гибель растений озимых зерновых культур в Восточной Сибири происходит в марте (конец зимнего периода). В это время наблюдаются резкие перепады температуры воздуха от положительных днём ($15\text{ }^{\circ}\text{C}$) до низких отрицательных ночью ($-25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

3. Изменение содержания дегидринов в растениях озимых в период зимовки

У озимых культур (тритикале, пшеница, рожь) с помощью иммуноблоттинга со специфичными к дегидринам антителами показано, что в узлах кушения растений, выращенных в полевых условиях, присутствуют дегидрины с молекулярными массами: 209; 196; 169; 66; 55,3; 55; 46,9; 45; 43,2; 41; 36; 29; 6,6; 6,5; 5,9 кДа. У озимого тритикале (сортообразец № 430-6002 - пробы от 25 ноября) независимо от возраста и сортовых особенностей качественный состав дегидринов был одинаков (рис. 3). Отличия в продолжительности осенней вегетации, степени развития растений и сортовых особенностей не отражались на качественном составе дегидринов узлов кушения, подобный набор белков характерен и для тритикале. Качественный состав дегидринов озимой ржи отличался от состава дегидринов озимой пшеницы и озимого тритикале. У ржи отсутствовали белки с молекулярной

массой 66; 29 и 5,9 кДа. В качестве мажорных можно отметить у озимой ржи 55,3 и 55 КДа, а озимого тритикале и пшеницы белки с мол. массой 66; 55 и 6,5 кДа.



Водорастворимая фракция

Термостабильная фракция

Рис. 3. Дегидрины, выделенные из узлов кушения озимых зерновых культур. Дата отбора проб - ноябрь.

На трек наносили по 15 мкг белка. кДа-молекулярная масса белков. С-озимое тритикале сорт Сирс 57, П-озимая пшеница сорт Иркутская; Р-озимая рожь сортообразец № 21; 1,2,3-озимое тритикале разных сроков посева сортообразец № 430-6002 (1-посев 10.08; 2-посев 20.08; 3-посев 30.08).

На рис. представлена типичная картина иммуноблоттинга, которая воспроизводилась не менее чем в трёх повторностях, для каждого времени отбора образцов, каждый год наблюдения (2010-2013 гг.)

В течение зимовки отмечены изменения в составе дегидринов узлов кушения исследуемых растений. В спектре отмеченных групп белков не обнаруживаются дегидрины с молекулярными массами 43,2; 41 и 36 кДа у всех культур. У озимого тритикале всех сроков посева сортообразца № 430-6002 и сорта Сирс 57, а также у озимой пшеницы не было обнаружено белка с молекулярной массой 55,3 кДа в отличие от озимой ржи. Следует отметить, что этот полипептид присутствовал у всех исследуемых культур в начале зимы.

Дегидрин с молекулярной массой 29 кДа, обнаруженный в узлах кушения в ноябрьской пробе у тритикале и пшеницы, в последующих пробах на протяжении зимовки у пшеницы не обнаруживался. У тритикале этот белок присутствовал практически в течение всей зимовки, но не проявлялся при отборе проб 30 марта. В последнюю точку наблюдений (30 марта) в спектре дегидринов, выделенных из узлов кушения, присутствуют как высокомолекулярные (209, 196 и 169 кДа), так и низкомолекулярные (6,6 и 6,5 кДа) дегидрины (рис. 4). Для озимого тритикале и пшеницы мажорными полипептидами были дегидрины с молекулярной массой 66 и

55 кДа, т. е. те же белки, что и в начале наблюдений (ноябрь), исключая белок 6,5 кДа. Для ржи такими белками являются 55 и 55,3 кДа.

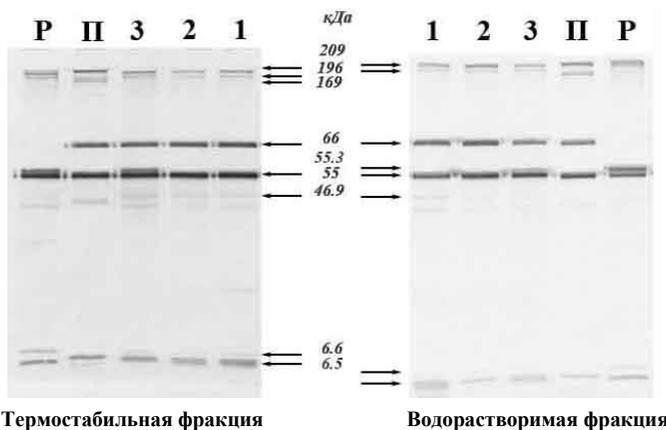


Рис. 4. Дегидрины, выделенные из узлов кущения озимых зерновых культур. Дата отбора проб-30 марта.

На трек наносили по 15 мкг белка. кДа-молекулярная масса белков. П-озимая пшеница сорт Иркутская; Р-озимая рожь сортообразец № 21; 1,2,3-озимое тритикале разных сроков посева сортообразец № 430-6002 (1-посев 10.08; 2-посев 20.08; 3-посев 30.08).

На рис. представлена типичная картина иммуноблоттинга, которая воспроизводилась не менее чем в трёх повторностях, для каждого времени отбора образцов, каждый год наблюдения (2010-2013 гг.)

Отличительной особенностью в качественном составе дегидринов в узлах кущения (январь – конец марта) озимой ржи от озимого тритикале и пшеницы является наличие белка с молекулярной массой 55,3 кДа. Возможно, что именно этот дегидрин определяет более высокую зимостойкость озимой ржи, в сравнении с озимой пшеницей. Интересным фактом является то, что этот белок обнаруживался и у озимого тритикале (вне зависимости от возраста растений и сорта) и у озимой пшеницы, но только в начале зимнего периода. Дегидрин с молекулярной массой 29 кДа, который характерен для озимого тритикале и озимой пшеницы в начале зимы (25 ноября), в дальнейшем (отбор проб – 25 января, 21 февраля, 3 марта, 15 марта) присутствует только у озимого тритикале (исключение 30 марта). Вероятно, что дегидрин с молекулярной массой 29 кДа у озимого тритикале в какой-то степени определяет его большую зимостойкость в сравнении с озимой пшеницей.

Относительное высокое содержание дегидринов было в начале зимы, в ноябре (данные не представлены). В конце зимовки их содержание снизилось у всех культур. Наименьшее количество всех выявленных дегидринов отмечали у озимой пшеницы. Количество мажорных белков (66; 55 кДа) было примерно на одном

уровне. Это говорит о том, что в течение зимовки у тритикале снижение количества дегидринов (высоко- и низкомолекулярных) происходит более медленно, чем у озимой пшеницы.

4. Дыхание узлов кушения озимых культур в течение осенне-весеннего периода

В период адаптации в осенний период (25 ноября) интенсивность дыхания узлов кушения растений озимой пшеницы, ржи и тритикале снизилась (рис. 5).

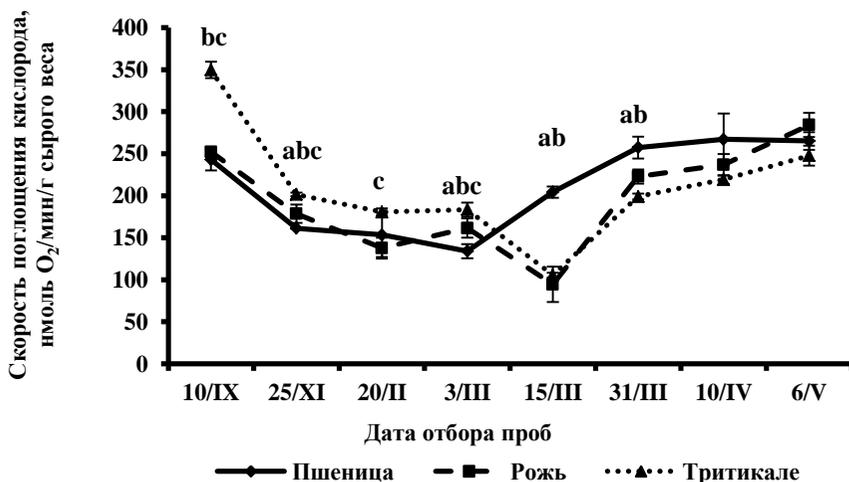


Рис. 5. Интенсивность дыхания узлов кушения озимой пшеницы, озимой ржи и озимого тритикале в течение осенне-весеннего периода, $n=4$, $M \pm m$

а-рожь отличается от пшеницы; б-тритикале отличается от пшеницы; с-рожь отличается от тритикале-различия статистически значимы $p \leq 0,05$

На графике представлены данные за 2011-2012 г.-подобная динамика сохранялась в период 2012-2013 гг.

На протяжении зимнего периода (январь, февраль) дыхание было не высоким у всех исследуемых культур. Определение интенсивности дыхания узлов кушения 3 марта показало, что у растений озимого тритикале дыхание статистически значимо выше, по сравнению с рожью и пшеницей. Важно отметить, что у растений озимой пшеницы интенсивность дыхания была ниже, по сравнению с другими культурами. В конце зимнего периода (15 марта) у растений озимой пшеницы наблюдали повышение интенсивности дыхания в сравнении с озимой рожью и тритикале. У озимой пшеницы при повышении температуры в дневное

время интенсивность дыхания увеличилась на 33%, в то время как у озимой ржи и тритикале она понизилась.

В дальнейшем, в апреле и мае различий между культурами выявлено не было. Обнаруженные различия в пробах, отобранных 15 и 31 марта, вероятно, обусловлены повышением температуры в дневное время до положительных значений, которое приводило к различиям в ответной реакции озимых культур. Таким образом, растения озимой пшеницы при повышении температур в конце зимы быстрее активизируют физиологические процессы (дыхание), быстрее расходуют запасные вещества (водорастворимые углеводы) по сравнению с озимой рожью и тритикале, что и определяет её меньшую зимостойкость.

5. Изменение содержания водорастворимых углеводов в узлах кущения озимых культур в течение осенне-весеннего периода

В осенний период содержание углеводов в узлах кущения озимых культур зависит от видовой принадлежности (рис. 6).

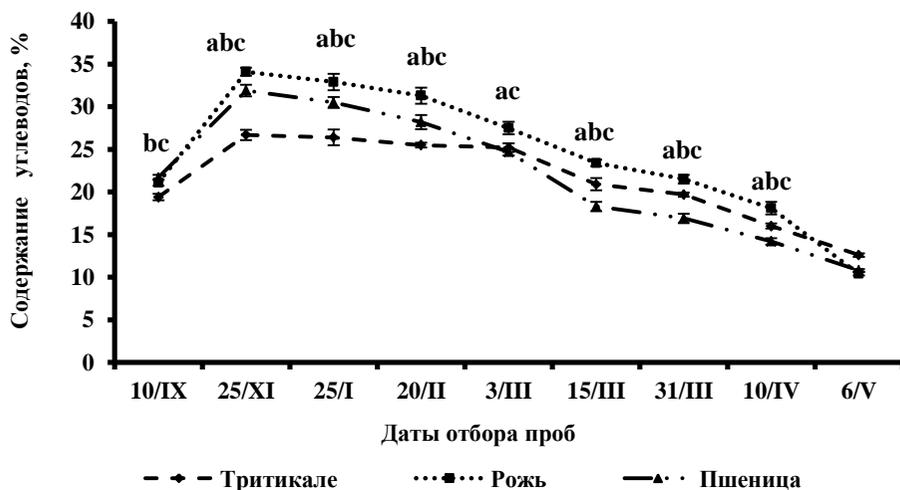


Рис. 6. Динамика накопления и расхода углеводов у ржи, пшеницы и тритикале в течение осенне-весеннего периода, $n = 12-21$, $M \pm m$

a-рожь отличается от пшеницы; b-тритикале отличается от пшеницы; c-рожь отличается от тритикале-различия статистически значимы $p \leq 0,05$

На графике представлены данные за 2011-2012 г.-подобная динамика сохранялась в период 2010-2011 и 2012-2013 гг.

Максимальное их количество отмечено у озимой ржи (34,1%), минимальное у озимого тритикале (24,0%). Пшеница занимает промежуточное положение (31,2%). Снижение в содержании водорастворимых углеводов в течение зимнего периода обусловлено видовой принадлежностью. Озимая рожь израсходовала 35,3% накопленных сахаров, озимое тритикале – 38,6% и озимая пшеница - 48,2%. Растения озимой пшеницы расходовали сахара быстрее, чем озимая рожь и тритикале, особенно ярко эти различия начинают проявляться в течение марта. Полученные результаты согласуются с её высоким дыханием.

6. Изменение содержания свободного пролина в узлах кущения озимых злаков

Содержания свободного пролина в узлах кущения озимых злаков в период зимовки может служить показателем, характеризующим уровень воздействия стрессовых факторов. В работе приведены данные о характере изменений содержания пролина в узлах кущения озимого тритикале, озимой пшеницы и озимой ржи в течение осенне-весеннего периода. Анализ содержания свободного пролина в узлах кущения исследуемых озимых культур показал, что в ноябре (25.11) они имели примерно равное количество этой аминокислоты (рис. 7).

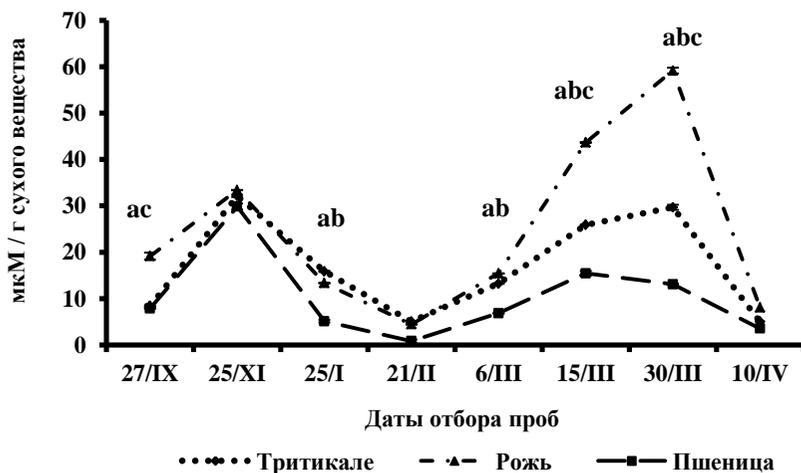


Рис. 7. Содержание свободного пролина в узлах кущения, $n=9-12$, $M \pm m$
 а-рожь отличается от пшеницы; б-тритикале отличается от пшеницы; с-рожь отличается от тритикале-различия статистически значимы $p \leq 0,05$

На графике представлены данные за 2011-2012 г.-подобная динамика сохранялась в период 2012-2013 гг.

В январе и феврале происходило снижение содержания свободного пролина в узлах кущения у всех изучаемых культур. Изменения температуры в конце зимы (март) вызывали значительное увеличение содержания свободного пролина в узлах кущения всех исследованных культур, причём это увеличение наблюдалось на протяжении всего марта. Самое высокое содержание пролина было у озимой ржи, что значительно превышало это значение в ноябре. У озимой пшеницы в узлах кущения наблюдали самую низкую концентрацию свободного пролина.

Различия содержания свободного пролина в узлах кущения изучаемых культур в конце зимы, вероятно, связаны с общим состоянием растений и степенью их повреждения, а также различной скоростью активизации ферментов, в частности такого фермента как пирролин-5-карбоксилатсинтетаза (П5КС), ответственного за синтез этой аминокислоты. Совокупность полученных результатов свидетельствуют о том, что увеличение содержания свободного пролина в узлах кущения именно в марте является важной частью механизмов защиты растений озимых зерновых культур.

7. Жирнокислотный состав узлов кущения озимых культур в начале зимы

Известно, что клеточные мембраны первыми подвергаются действию стрессовых факторов и претерпевают изменения в первую очередь. Поэтому жирнокислотный состав растительных тканей может отражать направленность изменений, происходящих в мембранах клеток в период низкотемпературной адаптации. В связи с этим было изучен жирнокислотный состав узлов кущения озимых культур, выращенных в полевых условиях в начале зимнего периода. Оказалось, что в узлах кущения у растений пшеницы и ржи в начале зимнего периода было выше содержание ненасыщенных жирных кислот (рис. 8). В то время как у озимого тритикале соотношение насыщенных и ненасыщенных жирных кислот было примерно равным.

В начале зимы в узлах кущения озимых злаков в составе жирных кислот было высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот. У ржи в узлах кущения в начале зимнего периода накапливались полиненасыщенные жирные кислоты типа C18:2(n-6) и C18:3(n-3). Схожая картина была и у озимого тритикале, но выражена слабее. Важно отметить, что у ржи и тритикале в узлах кущения содержание моноеновых жирных кислот было статистически значимо ниже, чем ди-

и триеновых жирных кислот. У растений озимой пшеницы содержание моно-, ди- и триеновых жирных кислот было практически одинаковым, значимых отличий не обнаружено (рис. 9).

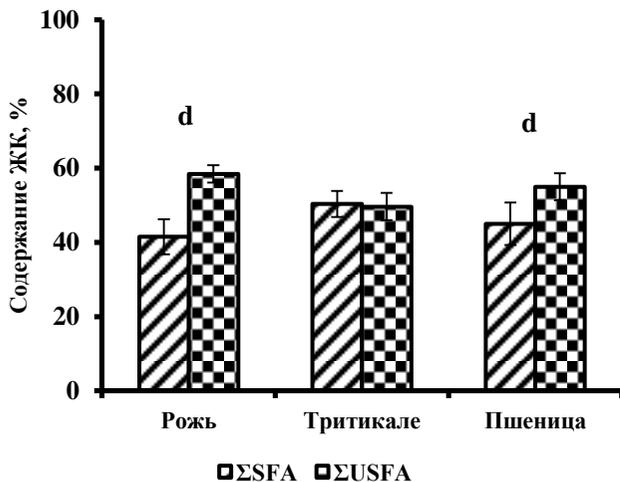


Рис. 8. Относительное содержание насыщенных (Σ SFA) и ненасыщенных (Σ USFA) жирных кислот липидов в узлах кушения озимых злаков. $n=3$, $M\pm m$; d- Σ SFA статистически значимы выше Σ USFA при $p \leq 0,05$. Дата отбора проб – 25 ноября, 2013 г.

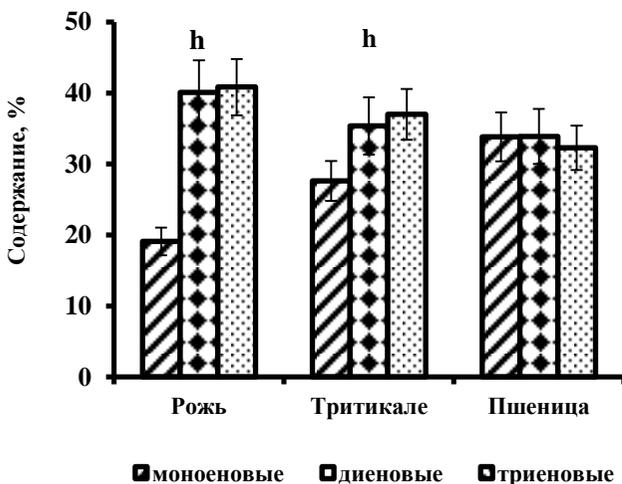


Рис. 9. Соотношение моно-, ди- и триеновых жирных кислот общих липидов узлов кушения озимых культур в ноябре. $n=3$, $M\pm m$; h-содержание ди- и триеновых групп кислот статистически значимы выше содержание моноеновых при $p \leq 0,05$. Дата отбора проб – 25 ноября, 2013 г.

Таким образом, в результате проведённых экспериментов показано, что в начале зимнего периода у озимых зерновых (рожь, пшеница и тритикале) отмечали различия в жирнокислотном составе. В узлах кушения озимой ржи и пшеницы было высокое содержание ненасыщенных жирных кислот, при этом в конце зимнего

периода у растений озимой пшеницы отмечали наибольшую гибель. У озимого тритикале статистически значимых отличий в соотношении насыщенных/ненасыщенных жирных кислот не обнаружено.

Можно предположить, что более высокая устойчивость к низким отрицательным температурам озимой ржи и озимого тритикале по сравнению с озимой пшеницей обеспечивалось главным образом за счёт высокого относительного содержания ди- и триеновых ненасыщенных жирных кислот, которые как известно, обладают более низкой температурой плавления, что и обеспечивает сохранение текучести мембран в условиях низких отрицательных температур и низким относительным содержанием моноеновых ненасыщенных жирных кислот.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В полевых исследованиях было установлено, что растения озимых зерновых культур имеют схожий механизм становления зимостойкого состояния в период осенней адаптации, что связано с однонаправленными изменениями в составе дегидринов, накоплении сахаров, свободного пролина, жирнокислотном составе узлов кущения и интенсивности их дыхания. Различия в физиологическом и биохимическом состоянии узлов кущения исследуемых злаков более отчётливо проявляются на протяжении зимнего периода и особенно в его конце.

Наибольшее количество дегидринов было обнаружено у изучаемых зерновых культур в начале зимы. Впервые было показано присутствие 11 дегидринов, ранее не обнаруженных. Особенностью состава дегидринов узлов кущения озимой ржи является присутствие во время всей зимовки белка с молекулярной массой 55,3 кДа, который обнаруживается у других исследуемых озимых культур только в ноябре. Возможно, более высокая устойчивость озимой ржи в течение зимовки определяется присутствием именно этого белка. В начале зимовки качественный состав дегидринов узлов кущения озимого тритикале и озимой пшеницы был одинаков, но уже в январе проявляются различия. У озимой пшеницы сорта Иркутская отсутствует белок с молекулярной массой 29 кДа, который остаётся в течение всей зимовки у тритикале (исключение 30 марта). Вероятно, различия по содержанию этого белка в течение зимовки могут определять имеющуюся разницу в зимостойкости этих двух культур. Необходимо отметить, что

дегидрин с мол. массой 55,3 кДа интересен тем, что этот белок присутствует в течение периода зимы только у озимой ржи и полипептид с молекулярной массой 29 кДа у озимого тритикале, возможно, обуславливают высокую зимостойкость этих культур.

Это подтверждается и накоплением водорастворимых углеводов в узлах кущения. Содержание сахаров в узлах кущения озимой ржи и озимой пшеницы в конце осеннего периода развития было высоким, но в течение зимнего периода и особенно в конце зимы наблюдали значительное снижение водорастворимых углеводов по сравнению с максимальным содержанием их перед уходом в зиму. Различия в расходе сахаров, скорее всего, обусловлено интенсивностью дыхания узлов кущения. Так у озимой пшеницы отмечали более высокую интенсивность дыхания и расход углеводов в сравнении с озимой рожью и тритикале. Более низкий уровень устойчивости растений озимой пшеницы к низким температурам по сравнению с рожью и тритикале, очевидно, связан с более ранней активацией физиологических процессов.

Содержание пролина в узлах кущения пшеницы, ржи и тритикале в течение осенне-весеннего периода имеет два пика. Первый отмечен в конце ноября и второй в конце марта. Минимальное количество пролина в узлах кущения изученных растений было обнаружено в феврале и в апреле. В конце зимы (март) были обнаружены различия в содержании пролина в узлах кущения озимого тритикале, пшеницы и ржи. Наибольшее содержание свободного пролина в узлах кущения было у озимой ржи, наименьшее его содержание у озимой пшеницы. Озимое тритикале по этому показателю занимало промежуточное положение. Возможно, защитные функции пролина в конце зимнего периода (март) в узлах кущения озимых злаков заключаются в том, что пролин выступает как соединение защищающее клеточные мембраны от дегидратационного напряжения, вызванного низкими температурами (Verslues, Sharma, 2010). Также пролин может принимать участие в снижении уровня активных форм кислорода (Matysik et al., 2002), содержание которых возрастает во время гипотермии в течение зимовки.

Функция мембран растительных тканей тесно связана с их липидным составом, именно мембраны клеток являются первым звеном повреждений действием низких отрицательных температур (Takahashi et al., 2013). Поэтому сохранение функций мембран является важным компонентом для растительной клетки (Трунова, 2007). В ходе экспериментов установлено, что в узлах кущения

озимых злаков в начале зимнего периода у озимой ржи и пшеницы было высокое содержание ненасыщенных жирных кислот, в то время как у озимого тритикале соотношение насыщенных к ненасыщенным жирным кислотам было примерно равным. В частности, у ржи и тритикале в составе ЖК отмечали высокое относительное содержание ди- и триеновых групп кислот мембранных липидов и низкое содержание моноеновых ненасыщенных жирных кислот. У озимой пшеницы соотношение моно-, ди- и триеновых жирных кислот было примерно на одном уровне. Вероятно, для обеспечения высокой зимостойкости и морозостойкости важно не столько соотношение ненасыщенных жирных кислот к насыщенным, а конкретный состав ненасыщенных жирных кислот.

Механизм формирования устойчивости к низким отрицательным температурам у всех трёх изученных культур практически одинаков. Совокупность полученных данных свидетельствует, что исследуемые злаки (рожь, тритикале и пшеница) отличаются составом дегидринов в узлах кущения, отдельные из которых могут рассматриваться как кандидаты на важную роль в зимостойкости и морозостойкости растений. Показано, что низкий уровень устойчивости растений озимой пшеницы к низким температурам, по сравнению с озимой рожью и тритикале, связан с ранней активацией процессов дыхания. Различия в концентрации свободного пролина в узлах кущения озимых культур в конце зимнего периода показали, что у озимой пшеницы содержание пролина было в два-четыре раза меньше, по сравнению с озимым тритикале и озимой рожью, что и определяет её низкую относительную зимостойкость.

ВЫВОДЫ

1. Зимостойкость озимого тритикале и озимой ржи выше, чем у озимой пшеницы. Это доказано данными по определению лабораторной относительной морозостойкости проростков культур и подтверждено полевыми экспериментами.

2. Наибольшее количество дегидринов в узлах кущения озимых тритикале, ржи и пшеницы содержится в начале зимнего периода. Впервые было обнаружено 11 ранее не показанных белков. Из них 8 белков присутствуют на протяжении практически всей зимовки растений и только три (43,2; 41; 36 кДа) в начале зимовки в ноябре.

3. Выявлены видовые различия культур по содержанию дегидринов в узлах кущения. Для озимой пшеницы и озимого тритикале характерны белки с молекулярной массой 66; 43,2; 29 и 5,9 кДа, которые отсутствуют у озимой ржи. Различий по спектру дегидринов между тритикале и пшеницей не обнаружено. Более высокую зимостойкость озимого тритикале и озимой ржи по сравнению с пшеницей, вероятно, определяют белки 29 кДа для тритикале и 55,3 кДа для ржи.

4. Озимая пшеница, вследствие повышения температуры в конце зимы, раньше активизировала физиологические процессы, в частности дыхание, по сравнению с рожью и тритикале.

5. В содержании свободного пролина у озимых культур обнаружено два пика характерных для начала и конца зимы. Различия между видами проявляются в конце зимовки (март). У озимой пшеницы содержание свободного пролина в узлах кущения было в два-четыре раза меньше, по сравнению с озимым тритикале и озимой рожью.

6. Высокий уровень зимостойкости озимой ржи и озимого тритикале по сравнению с озимой пшеницей определяется высоким содержанием С18:2 и С18:3 в составе ЖК и меньшим содержанием С18:1.

7. Исследования зимостойкости озимых зерновых культур в полевых условиях показало, что основной процент растений погибает в конце зимы, что наиболее ярко прослеживается на растениях озимой пшеницы. Отличия в более высокой зимостойкости озимой ржи и озимого тритикале, по сравнению с озимой пшеницей, возможно, обусловлено содержанием дегидринов с мол. массой 55,3 и 29 кДа в течение зимнего периода, а также высоким содержанием свободного пролина, низкой интенсивностью дыхания и расхода сахаров в конце зимовки.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **А.В. Поморцев**, Н.В. Дорофеев, А.А. Пешкова, Е.В. Бояркин. Морозостойкость и динамика содержания углеводов у озимых злаков в осенне-зимне-весенний период // Вестник ИрГСХА. – 2012. – вып. 49 – С.33 – 40.

2. **А.В. Поморцев**, О.И. Грабельных, Н.В. Дорофеев, А.А. Пешкова, В.К. Войников. Связь морозостойкости озимых зерновых с интенсивностью дыхания и содержанием водорастворимых углеводов в течение осенне-весеннего

периода // Journal of stress physiology & biochemistry. – 2013. – V.9, №4. – P. 115 – 121.

3. **А.В. Поморцев**, Н.В. Дорофеев, А.А. Пешкова, Е.В. Бояркин. Содержание дегидринов в узлах кущения озимого тритикале в зависимости от возраста растений. Труды V международной научно-практической конференции молодых учёных «Новейшие направления развития аграрной науки в работах молодых ученых», Новосибирск, 2012, С. 335 – 337.

4. **А.В. Поморцев**. Адаптация растений озимого тритикале к абиотическим факторам среды (низкая отрицательная температура) в течение осенне-зимне-весеннего периода в Восточной Сибири. Труды международной научно-практической конференции молодых учёных «Научные исследования и разработки к внедрению в АПК», Иркутск, 2013, С. 45 – 51.

5. **А.В. Поморцев**, Н.В. Дорофеев, О.И. Грабельных, А.А. Пешкова. Влияние сроков посева на морозостойкость озимого тритикале в Восточной Сибири. Сборник трудов по материалам Международной заочной научно-практической конференции «Проблемы науки, техники и образования в современном мире», Липецк, 2012, С. 219 – 220.