

УДК 581.1

РЕАКЦИЯ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ НА ПОЧВЕННУЮ ЗАСУХУ И ДЕЙСТВИЕ ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА

© 2016 г. Ю. В. Карпец, Ю. Е. Колупаев,
Д. А. Григоренко, Е. Н. Фирсова

*Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева
(Харьков, Украина)*

Исследовали реакцию на почвенную засуху и/или предобработку донором оксида азота нитропруссидом натрия (НПН) трех сортов ячменя (*Hordeum vulgare* L.): Гелиос (слабозасухоустойчивый), Козак (среднезасухоустойчивый), Мономах (высокозасухоустойчивый). 6-суточное действие засухи (снижение влажности почвы до 25-30% от ПВ) приводило к угнетению линейного роста и накопления биомассы растений, более заметно эти эффекты проявлялись у сортов Гелиос и Козак. Обработка НПН в оптимальной концентрации 2 мМ вызывала небольшое увеличение ростовых показателей растений в условиях нормального увлажнения. Опрыскивание растений НПН перед началом действия засухи смягчало негативное ее влияние на ростовые процессы. Под влиянием засухи в листьях растений всех трех сортов уменьшалось содержание воды, однако более заметным этот эффект был у сорта Гелиос. У этого же сорта отмечалось наиболее существенное увеличение водodefицита при засухе. Обработка растений НПН в обычных условиях практически не влияла на показатели водного статуса. В то же время в условиях засухи под влиянием НПН в листьях повышалось содержание воды и уменьшался водodefицит. Засуха вызывала снижение содержания хлорофилла и каротиноидов у растений всех трех сортов. Под влиянием обработки НПН в физиологически нормальных условиях в листьях растений отмечалось увеличение содержания хлорофиллов. В условиях засухи обработка растений НПН способствовала сохранению пула хлорофиллов и каротиноидов. Более выраженным этот эффект был у сортов Гелиос и Козак. Содержание пролина в листьях в обычных условиях было наиболее высоким у сорта Гелиос и наиболее низким у сорта Мономах. Засуха вызывала увеличение содержания пролина у всех трех сортов приблизительно в одинаковой пропорции. НПН не оказывал достоверного влияния на содержание пролина как в обычных условиях, так и при засухе. Содержание сахаров было более высоким у растений сортов Козак и Мономах. Засуха вызывала снижение содержания сахаров у всех сортов. При обработке растений НПН в обычных условиях наблюдалась тенденция к повышению содержания сахаров в листьях, а при засухе предварительное действие НПН способствовало сохранению их пула у всех трех сортов. Обсуждается возможное влияние донора оксида азота на протекторные системы растений ячменя при засухе.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare*, засуха, водodefицит, оксид азота, устойчивость

Оксид азота (NO) является сигнальной молекулой-радикалом, участвующей во многих физиологических процессах растений, в т.ч. в адаптации к действию стрессоров. Имеются сведения о повышении его содержания у растений в ответ на действие неблагоприятных факторов различной природы, в т.ч. гипертермию, осмотический стресс и действие соли (Sevahir

et al., 2007; Zhao et al., 2009; Shi et al., 2014; Карпец и др., 2015).

Во многих экспериментах показано положительное влияние на растения экзогенного оксида азота (обработки донорами NO, например, нитропруссидом натрия – НПН) в условиях действия стресс-факторов различной природы. В частности, сообщается о положительных эффектах доноров NO на растения разных видов при осмотическом и солевом стрессах, действии гипо- и гипертермии, ультрафиолета, тяжелых металлов (Zhang et al., 2006; Wang et

Адрес для корреспонденции: Карпец Юрий Викторович, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, п/о «Коммунист-1», Харьков, 62483, Украина;
e-mail: plant_biology@mail.ru

al., 2007; Tan et al., 2008; Wu et al., 2011; Карпец и др., 2011; Krasnylenko et al., 2012).

Среди защитных реакций растений, индуцируемых с участием эндогенного оксида азота или с помощью экзогенных доноров NO, активация экспрессии генов антиоксидантных ферментов (Santa-Cruz et al., 2010; Siddiqui et al., 2011), синтез некоторых стрессовых белков (Uchida et al., 2002), закрытие устьиц (Lu et al., 2005; Xu et al., 2006).

Предполагается, что оксид азота участвует и в регуляции содержания у растений совместимых осмолитов, обладающих различными протекторными свойствами, в частности, пролина. Однако влияние NO на его содержание у растений разных видов неоднозначно: имеются сведения как о повышении содержания пролина в растительных тканях под действием доноров оксида азота, так и о снижении (Тян, Лей, 2007; Lopez-Carrion et al., 2008; Tan et al., 2008).

Большинство данных о стресс-протекторном действии доноров NO на растения получено на клеточных культурах, каллусах, изолированных органах и других модельных объектах. В большинстве экспериментов по исследованию влияния доноров оксида азота на засухоустойчивость растений засуха моделируется с помощью ПЭГ (Тян, Лей, 2007). В то же время сведения о влиянии экзогенного NO на устойчивость растений к стресс-факторам, в частности, к засухе, в экспериментальных условиях, приближенных к естественным, немногочисленны.

Известно, что стратегия адаптации к засухе у растений разных генотипов может заметно различаться (Маевская, Николаева, 2013). При этом возможны существенные различия во вкладе различных компонентов протекторных систем в интегральную устойчивость растений. В связи с этим нельзя исключить сортовых различий в реакции растений на действие экзогенного оксида азота.

Целью работы было исследование влияния обработки донором оксида азота НПН на ростовые показатели, водный статус и накопление осмолитов при почвенной засухе у трех сортов растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.), различающихся по засухоустойчивости.

МЕТОДИКА

Объектом исследования были молодые растения трех сортов ячменя: Гелиос (слабозасухоустойчивый), Козак (среднезасухоустойчивый) и Мономах (высокозасухоустойчивый).

Растения выращивали в пластиковых контейнерах (почва чернозем типичный тяжелосуглинистый, рН_{KCl} 5,3, содержание гумуса 5,4%, подвижного фосфора и калия (по методу Чирикова) – соответственно 120 и 142 мг/кг). Влажность субстрата – около 80% от ПВ, освещение – 6 клк, фотопериод – 16 ч, температура 25/20°C (день/ночь). Перед созданием условий засухи растения в возрасте 10 сут опрыскивали растворами НПН в концентрациях 0,5, 2 и 10 мМ, контроль – опрыскивание дистиллированной водой.

Засуху создавали в течение шести суток, начиная с 11-го дня выращивания растений, уменьшением нормы полива с постепенным снижением влажности почвы до 25-30% от ПВ. После этого возобновляли полив.

Общее содержание воды в листьях растений, выращиваемых при нормальном увлажнении и в условиях засухи, определяли высушиванием листьев при 100-105°C на 16-е сутки эксперимента (6-е сут засухи). Водный дефицит оценивали по количеству воды, насыщающей срезанные листья (Пильщикова, 1990). В конце засухи (на 16-й день эксперимента) также определяли длину, сырую и сухую массу надземной части растений.

После воздействия засухи (на 16 сут эксперимента) и через 2 дня после возобновления полива (18 сут) в листьях определяли содержание фотосинтетических пигментов, пролина и сахаров.

Количество хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов в листьях определяли спектрофотометрическим методом при длинах волн 665, 649 и 440,5 нм, используя для экстракции 96% этанол (Шлык, 1971).

Содержание пролина в листьях определяли по методу Бейтса и соавт. (Bates et al., 1973) с небольшими модификациями. Проллин экстрагировали из растительного материала дистиллированной водой с последующим 10-минутным кипячением, экстракт фильтровали и к порциям фильтрата добавляли равные объемы нингидринового реактива и ледяной уксусной кислоты и кипятили пробы в течение 1 ч на водяной бане. Оптическую плотность окрашенного продукта определяли при длине волны 520 нм. Как стандарт использовали L-пролин.

Суммарное содержание сахаров в растительном материале определяли методом Морриса-Роз с использованием антронового реактива (Zhao et al., 2003) с модификациями (Колупаев и др., 2015). Сахара экстрагировали из растительного материала дистиллированной

РЕАКЦИЯ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ

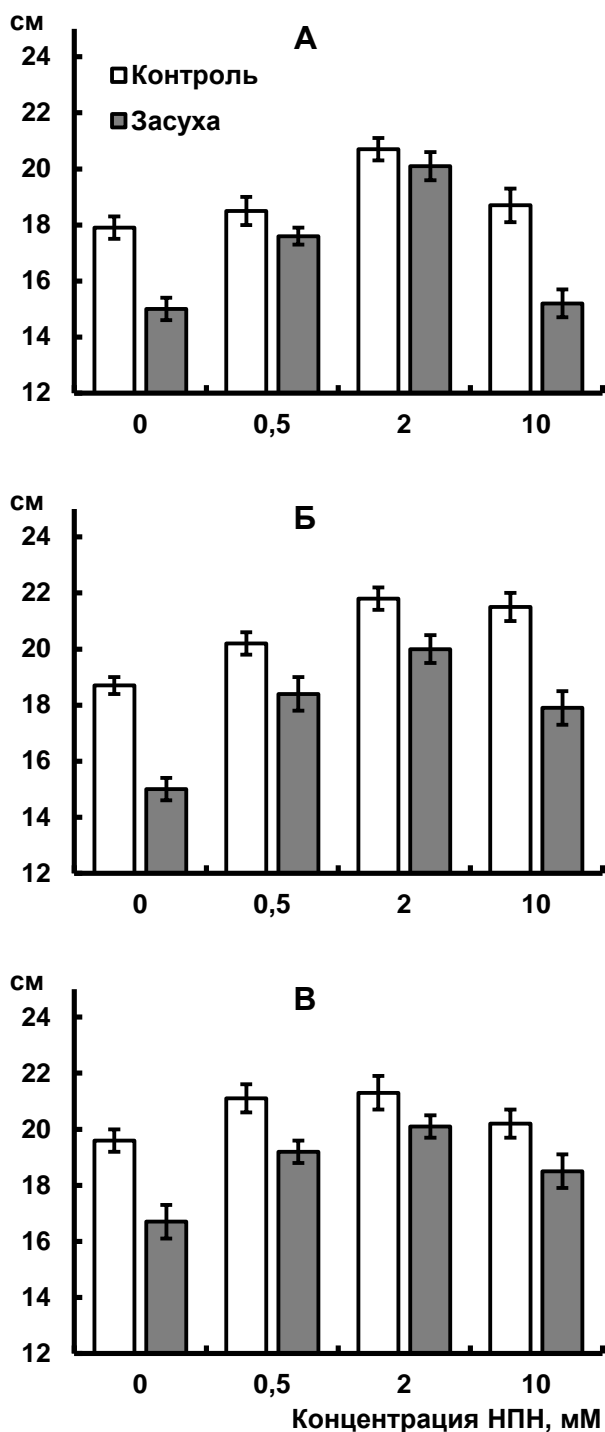


Рис. 1. Влияние НПН на длину растений ячменя в физиологически нормальных условиях и при засухе.

А – сорт Гелиос; Б – сорт Козак; В – сорт Мономах.

водой при 10-минутном нагревании на кипящей водяной бане. Осветление экстракта проводили с использованием растворов раствора сульфата цинка и желтой кровяной соли. После осветления пробы фильтровали через бумажный фильтр. В реакционных пробирках смешивали антроновый реактив и фильтрат, в контрольную

пробу вместо фильтрата вносили дистиллированную воду. После этого пробы 7 мин кипятили на водяной бане с последующим охлаждением до комнатной температуры. Светопоглощение определяли относительно контрольного раствора при 610 нм. В качестве стандарта использовали D-глюкозу.

При определении массы, длины и площади листьев оценивали не менее 30 растений. Другие показатели в экспериментах определяли в 3-4-кратной повторности. Опыты повторяли независимо 3 раза. На рисунках и в таблицах приведены средние значения и их стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Морфометрические показатели растений и их водный статус

Под влиянием засухи происходило снижение прироста надземной части растений ячменя всех трех сортов (рис. 1). Обработка 2 мМ НПН растений, растущих в физиологически нормальных условиях, вызывала увеличение длины их надземной части у сортов Гелиос и Козак, влияние НПН на этот показатель у сорта Мономах было менее заметным. Тенденцию к увеличению длины растений наблюдали и при их обработке НПН в концентрациях 0,5 и 10 мМ.

В условиях засухи предобработка растений НПН смягчала ее негативное действие на рост растений (рис. 1). Наиболее заметно позитивное влияние донора NO проявлялось при использовании концентрации 2 мМ.

После засухи сырая масса растений у сортов Гелиос и Козак была значительно ниже, чем в контроле. Реакция растений высокозасухоустойчивого сорта Мономах была менее заметной (рис. 2).

В физиологически нормальных условиях обработка НПН во всем исследуемом диапазоне концентраций не оказывала существенного влияния на величину сырой массы растений. Однако у сорта Гелиос отмечалось увеличение этого показателя при обработке НПН в концентрации 2 мМ. Предобработка донором NO предотвращала вызываемое засухой угнетение накопления сырой массы растений (рис. 2).

Под влиянием засухи отмечалась тенденция к снижению относительно контроля величины сухой массы растений сортов Гелиос и Козак, у сорта Мономах содержание сухого вещества после воздействия засухи не отличалось от контроля (рис. 2). Обработка НПН растений сортов Гелиос и Козак способствовала

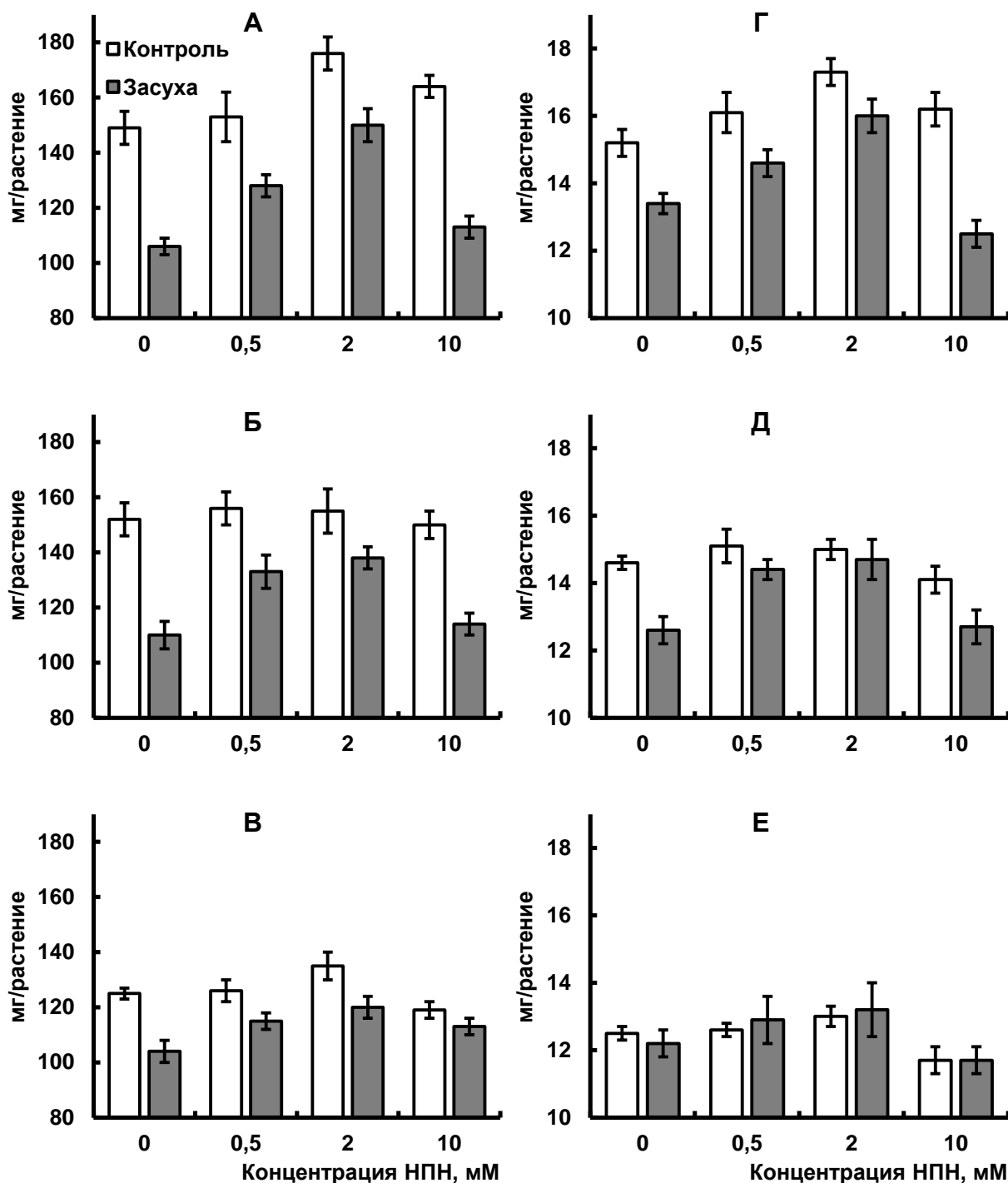


Рис. 2. Влияние НПН на величины сырой (А, Б, В) и сухой (Г, Д, Е) массы растений ячменя в физиологически нормальных условиях и при засухе.

А, Г – сорт Гелиос; Б, Д – сорт Козак; В, Е – сорт Мономах.

увеличению сухой массы при действии засухи. В обычных условиях под влиянием НПН увеличивалась только сухая масса растений сорта Гелиос.

Достоверное снижение содержания воды в листьях под влиянием засухи зафиксировано у сорта Гелиос, у двух других сортов проявлялась только тенденция к уменьшению этого показателя (рис. 3).

Обработка НПН в физиологически нормальных условиях не влияла на содержание воды в листьях (рис. 3, А). В то же время под ее влиянием в условиях засухи отмечалось более высокое содержание воды в тканях листьев сорта Гелиос. У других сортов эффект НПН был менее заметным.

Засуха вызывала значительное увеличение воддефицита у растений слабозасухо-

РЕАКЦИЯ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ

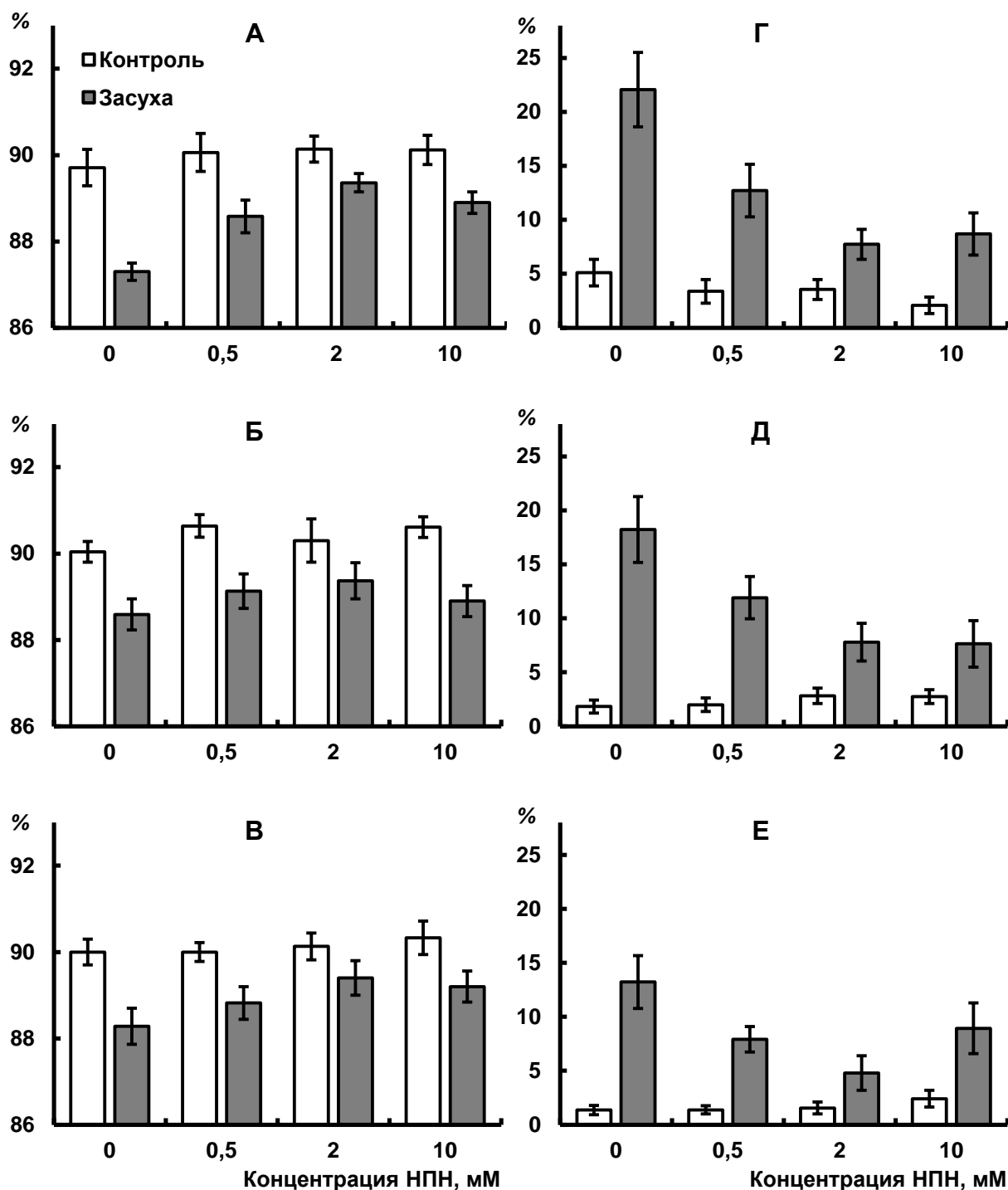


Рис. 3. Влияние НПН на содержание воды (% - А, Б, В) и воддефицит (% - Г, Д, Е) в листьях ячменя в физиологически нормальных условиях и при засухе.

А, Г – сорт Гелиос; Б, Д – сорт Козак; В, Е – сорт Мономах.

устойчивого сорта Гелиос (до 22%), в то время как у сортов Козак и Мономах эти величины составляли приблизительно 18 и 13%, соответственно (рис. 3). Под влиянием НПН в обычных условиях величины воддефицита у всех трех сортов не изменялись. В то же время в условиях засухи при обработке НПН в концентрации 2 мМ воддефицит растений всех трех

сортов уменьшался наиболее заметно. Донор оксида азота в двух других концентрациях также смягчал вызываемое засухой проявление воддефицита. Заметим, что обработка растений НПН в оптимальной концентрации (2 мМ) способствовала сохранению тургорного состояния растений при засухе (рис. 4).



Рис. 4. Влияние НПН на состояние растений ячменя в условиях засухи.
А – сорт Гелиос; Б – сорт Козак; В – сорт Мономах.

РЕАКЦИЯ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ

Таблица 1. Содержание фотосинтетических пигментов (мг/г сухого вещества) в листьях ячменя

Вариант	Хлорофилл <i>a</i>		Хлорофилл <i>b</i>		Сумма хлорофиллов		Каротиноиды	
	I	II	I	II	I	II	I	II
<i>Гелиос</i>								
Контроль	3,77±0,09	3,65±0,07	1,79±0,04	1,76±0,03	5,56±0,11	5,41±0,05	0,61±0,01	0,64±0,02
Засуха	3,41±0,05	3,15±0,05	1,83±0,06	1,46±0,04	5,24±0,07	4,61±0,08	0,46±0,02	0,58±0,02
НПН (2 мМ)	4,19±0,09	4,09±0,06	2,02±0,04	1,86±0,04	6,21±0,11	5,95±0,06	0,67±0,03	0,71±0,03
НПН (2 мМ) + засуха	3,97±0,07	3,71±0,07	2,00±0,05	1,75±0,05	5,97±0,10	4,92±0,07	0,63±0,03	0,70±0,02
<i>Козак</i>								
Контроль	4,02±0,06	3,77±0,07	1,97±0,03	1,74±0,06	5,99±0,09	5,51±0,07	0,64±0,02	0,70±0,05
Засуха	3,66±0,08	3,27±0,04	1,94±0,04	1,44±0,05	5,60±0,09	4,71±0,06	0,51±0,02	0,59±0,03
НПН (2 мМ)	4,07±0,05	3,94±0,06	2,24±0,04	2,09±0,06	6,31±0,08	6,03±0,07	0,65±0,04	0,72±0,04
НПН (2 мМ) + засуха	4,01±0,06	3,73±0,06	2,40±0,05	1,68±0,05	6,41±0,08	5,41±0,07	0,58±0,04	0,77±0,03
<i>Мономах</i>								
Контроль	4,00±0,05	4,14±0,06	1,97±0,05	1,78±0,06	5,97±0,08	5,92±0,08	0,61±0,02	0,64±0,04
Засуха	3,59±0,07	3,31±0,05	1,91±0,03	1,51±0,04	5,50±0,09	4,82±0,05	0,53±0,02	0,59±0,03
НПН (2 мМ)	4,29±0,09	4,10±0,05	2,26±0,04	2,03±0,05	6,55 ±0,10	6,13±0,06	0,63±0,03	0,66±0,02
НПН (2 мМ) + засуха	3,99±0,06	3,63±0,04	2,11±0,03	1,58±0,04	6,10±0,07	5,21±0,05	0,58±0,02	0,67±0,02

Примечание. Здесь и в табл. 2: I – после 6 сут воздействия засухи; II – через 2 сут после возобновления полива.

Таблица 2. Содержание пролина и сахаров (мг/г сухого вещества) в листьях ячменя

Вариант	Пролин		Сахара	
	I	II	I	II
<i>Гелиос</i>				
Контроль	4,94 ± 0,08	4,79 ± 0,09	61,6 ± 2,0	60,3 ± 1,6
Засуха	6,22 ± 0,12	4,52 ± 0,12	53,8 ± 1,8	53,2 ± 2,0
НПН (2 мМ)	5,22 ± 0,10	4,66 ± 0,09	73,5 ± 2,0	63,8 ± 1,5
НПН (2 мМ) + засуха	5,75 ± 0,12	3,93 ± 0,11	63,7 ± 1,9	56,5 ± 2,0
<i>Козак</i>				
Контроль	3,83 ± 0,13	3,72 ± 0,10	74,9 ± 1,6	69,3 ± 1,4
Засуха	5,20 ± 0,08	3,18 ± 0,08	63,9 ± 1,9	64,4 ± 1,8
НПН (2 мМ)	4,30 ± 0,10	3,40 ± 0,10	78,9 ± 1,4	73,7 ± 1,7
НПН (2 мМ) + засуха	4,27 ± 0,11	2,95 ± 0,12	75,2 ± 1,8	68,8 ± 1,5
<i>Мономах</i>				
Контроль	2,50 ± 0,10	2,37 ± 0,09	76,6 ± 1,8	72,6 ± 0,8
Засуха	3,08 ± 0,12	2,24 ± 0,12	58,2 ± 1,4	69,6 ± 1,4
НПН (2 мМ)	2,78 ± 0,08	2,34 ± 0,08	83,0 ± 2,0	74,2 ± 1,6
НПН (2 мМ) + засуха	2,66 ± 0,12	2,18 ± 0,08	71,6 ± 1,6	77,0 ± 1,5

Содержание фотосинтетических пигментов в листьях

Под влиянием засухи содержание хлорофилла *a* снижалось у всех трех сортов, после возобновления полива оно также было ниже, чем в соответствующих контрольных вариантах (табл. 1). Содержание хлорофилла *b* после 6-дневной засухи достоверно не изменялось в листьях всех трех исследуемых сортов. Однако после возобновления полива оно становилось ниже, чем в соответствующих контролях (табл. 1). Величины суммарного содержания хлорофилла как сразу после засухи, так и после возобновления полива у растений всех трех сортов

были ниже, чем в контроле. Таким образом, засуха оказывала негативное влияние на пул хлорофилла у растений с различной засухоустойчивостью.

В физиологически нормальных условиях обработка растений НПН вызывала некоторое увеличение содержания хлорофиллов *a* и *b* в листьях сорта Гелиос. У сортов Козак и Мономах под влиянием НПН в условиях нормального полива отмечалось только увеличение содержания хлорофилла *b* (табл. 1). Суммарное содержание хлорофилла в варианте с НПН в обычных условиях было несколько выше у всех трех сортов.

В условиях засухи обработка НПН значительно повышала содержание хлорофиллов у сортов Гелиос и Козак. Менее выраженным было положительное влияние НПН в этих условиях на содержание хлорофиллов у высокозасухоустойчивого сорта Мономах (табл. 1).

Содержание каротиноидов под влиянием засухи снижалось у всех сортов, особенно заметно у неустойчивого сорта Гелиос. После возобновления полива оно несколько увеличивалось, приближаясь к соответствующим значениям контроля (табл. 1).

Обработка НПН в обычных условиях не влияла на содержание каротиноидов. В то же время в вариантах с засухой обработка НПН предотвращала снижение содержания каротиноидов у всех трех сортов. После возобновления полива в листьях растений, обработанных НПН, содержание каротиноидов у сортов Гелиос и Мономах превышало соответствующие значения контрольных вариантов (табл. 1).

Содержание пролина и сахаров в листьях

Содержание пролина у растений разных сортов, растущих в условиях нормального увлажнения, существенно различалось (табл. 2). Наиболее высоким оно было у сорта Гелиос, наиболее низким – у сорта Мономах. Засуха вызывала пропорциональное повышение содержания пролина у всех трех сортов. Однако это увеличение было небольшим. После возобновления полива содержание пролина снижалось до исходных величин.

В условиях нормального увлажнения обработка НПН слабо влияла на содержание пролина в листьях у всех трех сортов. Не выявлено выразительного влияния НПН и на содержание пролина в условиях засухи, а также после возобновления полива. Исключение составило пониженное содержание пролина в обработанных НПН листьях растений сорта Гелиос после возобновления полива (табл. 2).

Содержание сахаров в условиях нормального полива у разных сортов было неодинаковым. У сорта Гелиос оно было заметно ниже, чем у сортов Козак и Мономах (табл. 2). Под влиянием засухи содержание сахаров снижалось у всех трех сортов. После возобновления полива оно существенно повышалось у высокозасухоустойчивого сорта Мономах и не изменялось у сортов Гелиос и Козак.

Под влиянием НПН в физиологически нормальных условиях происходило достоверное повышение содержания сахаров только у

растений сорта Гелиос (табл. 2). У других сортов такой эффект проявлялся на уровне тенденции. В условиях засухи предобработка НПН способствовала сохранению пула сахаров на уровне, близком к контролю. После возобновления полива наиболее высокие значения содержания сахаров отмечались у растений сорта Мономах, обработанных НПН.

ОБСУЖДЕНИЕ

Сорта ячменя, используемые в экспериментах, существенно отличались по реакции на засуху. Наименьшей устойчивостью отличался сорт Гелиос, что проявлялось в существенном угнетении роста, накопления сырой и сухой биомассы в условиях засухи (рис. 1, 2). Ростовая реакция на засуху сорта Козак мало отличалась от таковой у сорта Гелиос, хотя ингибирующий эффект засухи был выражен немного слабее. В то же время у сорта Мономах ингибирование роста и накопления сырой биомассы при действии засухи проявлялось значительно слабее, чем у двух других сортов. Более того, сухая масса растений этого сорта, подвергнутых засухе, не отличалась от контроля (рис. 2).

Наиболее существенное снижение содержания воды в листьях после действия засухи проявлялось у сорта Гелиос (рис. 3). У этого же сорта наиболее заметно увеличивался воддефицит. Наименьшим в условиях засухи воддефицит был у сорта Мономах. Заметим, что этот сорт отличался от сортов Гелиос и Козак морфологически. Если средняя площадь листьев у сортов Гелиос и Козак была почти одинаковой и составляла 13,7 и 13,6 см²/растение, соответственно, то у сорта Мономах она составляла лишь 8,8 см²/растение. Известно, что меньшая площадь листа является признаком ксероморфности (Lawlor, Tezara, 2009). Как уже упоминалось, именно у сорта Мономах с малой площадью листьев в условиях засухи отмечался наименьший воддефицит.

Между сортами выявлены и различия в содержании пролина и сахаров, считающихся основными совместимыми осмолитами, накапливающимися при засухе (Кудоярова и др., 2013). Так, базовое содержание пролина в листьях оказалось в обратной зависимости от засухоустойчивости сортов. Наиболее высоким оно было у слабозасухоустойчивого сорта Гелиос и наиболее низким у высокозасухоустойчивого Мономах (табл. 2). В то же время конститутивное содержание сахаров было самым низким у неустойчивого сорта Гелиос и более

РЕАКЦИЯ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ

высоким у сортов Козак и Мономах, отличающихся более высокой засухоустойчивостью.

Засуха вызывала относительно небольшое повышение содержания пролина и снижение содержания сахаров у всех трех сортов (табл. 2). Через 2 сут после возобновления полива содержание сахаров существенно повышалось только у высокозасухоустойчивого сорта Мономах. Считается, что способность листьев удерживать воду во многом связана с накоплением именно сахаров (Jang et al., 2003). В условиях наших экспериментов наименьший вододефицит наблюдался именно у сорта Мономах, отличающегося высоким содержанием сахаров. По-видимому, в листьях ячменя вклад сахаров в поддержание осмотического статуса более существенный по сравнению с вкладом пролина.

Обработка НПН в той или иной степени оказывала влияние на исследуемые физиологические показатели у всех трех сортов в условиях засухи. Некоторые показатели под влиянием НПН изменялись и при нормальном поливе растений. Так, донор оксида азота оказывал выраженное ростстимулирующее действие на растения сорта Гелиос, влияние НПН на рост растений двух других сортов было менее заметным (рис. 2).

В условиях засухи под влиянием НПН увеличивались все ростовые показатели растений трех сортов. Однако действие на сорт Гелиос было наиболее, а на сорт Мономах наименее выраженным. Обработка НПН способствовала уменьшению вододефицита у всех трех сортов, но наиболее выраженным эффект был у слабозасухоустойчивого сорта Гелиос (рис. 3).

Положительное влияние НПН на водный статус растений в условиях засухи может быть связано с индуцированием оксидом азота закрытия устьиц и уменьшением тем самым испарения воды листьями (Lu et al., 2005). Кроме того, в вариантах с НПН отмечалось сохранение содержания сахаров в листьях в условиях засухи, что, по-видимому, также позитивно сказывалось на их водоудерживающей способности (Jang et al., 2003; Кудоярова и др., 2013). Повышенное содержание сахаров в листьях растений, обработанных НПН, в свою очередь, может быть связано с сохранением достаточной интенсивности фотосинтеза, обусловленной нормальным содержанием фотосинтетических пигментов (табл. 1). Такой эффект согласуется с данными работы Tu et al. (2003), в которой показано подавление деградации хлорофилла в листьях пшеницы под влиянием НПН. Обра-

ботка донором оксида азота способствовала сохранению пула хлорофилла и у растений пшеницы, подвергнутых токсическому действию алюминия (Чжан и др., 2008). Предотвращение вызываемой стрессорами деградации фотосинтетических пигментов может быть связано со способностью донора оксида азота индуцировать ферментативную систему антиоксидантной защиты, что показано на ряде объектов (Hung et al., 2002; Чжан и др., 2008; Карпец и др., 2011). Однако для однозначного заключения о роли ферментативных антиоксидантов в проявлении протекторного действия оксида азота на растения ячменя в условиях наших экспериментов необходимы специальные исследования, поскольку в литературе сообщается как об активирующем, так и об ингибирующем влиянии NO на антиоксидантные ферменты (см. обзор: Мамаева и др., 2015). Известно, что оксид азота может как непосредственно взаимодействовать с отдельными функциональными группами белков, так и оказывать влияние на экспрессию генов антиоксидантных ферментов (Clark et al., 2000; Zhou et al., 2005; Qiu et al., 2013).

Известно, что важным компонентом осмопротекторной и антиоксидантной системы является пролин (Liang et al., 2013). В то же время в условиях наших экспериментов вклад пролина в поддержание осмотического давления в листьях растений, обработанных НПН, по-видимому, был незначительным (табл. 2). Заметим, что в побегах проростков пшеницы, обработанных НПН, повышение содержания пролина, вызываемое засухой, было менее заметным, чем у необработанных (Тян, Лей, 2007). С другой стороны, есть сведения об индуцировании НПН увеличения содержания пролина в листьях пшеницы при действии на них солей алюминия (Чжан и др., 2008). По всей вероятности, вклад таких считающихся универсальными компонентов протекторных систем как пролин, растворимые углеводы, антиоксидантные ферменты и пр., в защитные эффекты оксида азота может заметно отличаться в зависимости от особенностей объекта исследования и характера стрессора.

В целом проведенные исследования свидетельствуют о существенном положительном влиянии донора оксида азота на засухоустойчивость растений ячменя, что проявлялось в сохранении у растений опытных вариантов близкого к контролю содержания воды, пула фотосинтетических пигментов, повышенного содержания сахаров. Вклад других протектор-

ных систем, в частности, антиоксидантных ферментов в реализацию эффектов донора оксида азота целесообразно исследовать специально. Кроме того, заслуживают внимания сортовые особенности реакции растений на обработку донором оксида азота. В наших экспериментах наиболее «отзывчивым» на действие донора NO оказался наименее засухоустойчивый сорт Гелиос. В то же время реакция на обработку НПН сорта Мономах, отличающегося высокой засухоустойчивостью, была менее выраженной.

Публикация содержит результаты исследований, проведенных при грантовой поддержке Государственного фонда фундаментальных исследований по конкурсным проектам Ф64/5-2016 и Ф63 (2016).

ЛИТЕРАТУРА

- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. Влияние нитропруссиды натрия на теплоустойчивость коллеоптилей пшеницы: связь эффектов с образованием и обезвреживанием активных форм кислорода // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 6. – С. 883-890.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А. Функциональное взаимодействие оксида азота и пероксида водорода при формировании индуцированной теплоустойчивости проростков пшеницы // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 1. С. 72-78.
- Колупаев Ю.Е., Рябчун Н.И., Вайнер А.А., Ястреб Т.О., Обозный А.И. Активность антиоксидантных ферментов и содержание осмолитов в проростках озимых злаков при закаливании и криострессе // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 4 – С. 533-541.
- Кудоярова Г.Р., Холодова В.П., Веселов Д.С. Современное состояние проблемы водного баланса растений при дефиците воды // Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 2. – С. 155-165.
- Маевская С.Н., Николаева М.К. Реакция антиоксидантной и осмопротекторной систем проростков пшеницы на засуху и регидратацию // Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 3. – С. 351-359.
- Мамаева А.С., Фоменков А.А., Носов А.В., Мошков И.Е., Мур Л.А.Дж., Холл М.А., Новикова Г.В. Регуляторная роль оксида азота у растений // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 4. – С. 459-474.
- Пильщикова Н.В. Водный обмен // Практикум по физиологии растений / Под ред. Н.Н. Третьякова. – М.: Агропромиздат, 1990. – С. 39-72.
- Тян С.Р., Лей Ю.Б. Физиологические ответные реакции проростков пшеницы на засуху и облучение УФ-Б. Влияние нитропруссиды натрия // Физиология растений. – 2007. – Т. 54, № 5. – С. 763-769.
- Чжан Х., Ли Я.Х., Ху Л.Ю., Ван С.Х., Чжан Ф.К., Ху К.Д. Влияние обработки листьев пшеницы донором окиси азота на антиокислительный метаболизм при стрессе, вызванном алюминием // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 4. – С. 523-528.
- Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений / Под ред. О.А. Павлиновой. – М.: Наука, 1971. – С. 154-170.
- Cevahir G., Aytamka E., Erol C. The role of nitric oxide in plants // Biotechnol. Biotechnol. Eq. – 2007. – V. 21. – P. 13-17.
- Clark D., Durner J., Navarre D.A., Klessig D.F. Nitric oxide inhibition of tobacco catalase and ascorbate peroxidase // Mol. Plant-Microbe Interact. – 2000. – V. 13. – P. 1380-1384.
- Hung K.T., Chang C.J., Kao C.H. Paraquat toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves // J. Plant physiol. – 2002. – V. 159. – P. 159-166.
- Jang I.C., Oh S.J., Se J.S., Choi W.B., Song S.I., Kim C.H., Kim Y.S., Seo H.S., Choi Y.D., Nahm B.H., Kim J.K. Expression of a bifunctional fusion of the *Escherichia coli* genes for trehalose-6-phosphate synthase and trehalose-6-phosphate phosphatase in transgenic rice plants increases trehalose accumulation and abiotic stress tolerance without stunting growth // Plant Physiol. – 2003. – V. 131. – P. 516-524.
- Krasylenko Y.A., Yemets A.I., Sheremet Y.A., Blume Ya.B. Nitric oxide as a critical factor for perception of UV-B irradiation by microtubules in *Arabidopsis* // Physiol. Plant. – 2012. – V. 145. – P. 505-515.
- Lawlor D.W., Tezara W. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: A critical evaluation of mechanisms and integration of processes // Ann. Bot. – 2009. – V. 103. – P. 561-579.
- Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. Proline mechanisms of stress survival // Antioxid. Redox Signal. – 2013. – V. 19. – P. 998-1011.
- Lopez-Carrion A.I., Castellano R., Rosales M.A., Ruiz J.M., Romero L. Role of nitric oxide under saline stress: implications on proline metabolism // Biol. Plant. – 2008. – V. 52. – P. 587-591.
- Lu D., Zhang X., Jiang J., An G.Y., Zhang L.R., Song C.P. NO may function in the downstream of H₂O₂ in ABA-induced stomatal closure in *Vicia faba* L. // J. Plant Physiol. Mol. Biol. – 2005. – V. 31. – P. 62-70.
- Qiu Z.B., Guo J.L., Zhang M.M., Lei M.Y., Li Z.L. Nitric oxide acts as a signal molecule in microwave pretreatment induced cadmium tolerance in wheat seedlings // Acta Physiol. Plant. – 2013. – V. 35. – P. 65-73.

РЕАКЦИЯ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ

- Santa-Cruz D.M., Pacienza N.A., Polizio A.H., Ba-lestrasse K.B., Tomaro M.L., Yannarelli G.G.* Nitric oxide synthase-like dependent NO production enhances heme oxygenase up-regulation in ultraviolet-B-irradiated soybean plants // *Phytochemistry*. – 2010. – V. 71. – P. 1700-1707.
- Shi H., Ye T., Zhu J.K., Chan Z.* Constitutive production of nitric oxide leads to enhanced drought stress resistance and extensive transcriptional reprogramming in *Arabidopsis* // *J. Exp. Bot.* – 2014. – V. 65. – P. 4119-4131.
- Siddiqui M.H., Al-Wahaibi M.H., Basalah M.O.* Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress // *Protoplasma*. – 2011. – V. 248. – P. 447-455.
- Tan J., Zhao H., Hong J., Han Y., Li H., Zhao W.* Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat seedlings subjected to osmotic stress // *World J. Agricult. Sci.* – 2008. – V. 4. – P. 307-313.
- Tu J., Shen W.B., Xu L.L.* Regulation of nitric oxide on the aging process of wheat leaves // *Acta Bot. Sinica*. – 2003. – V. 45. – P. 1055-1062.
- Uchida A., Jagendorf A.T., Hibino T., Takabe T., Takabe T.* Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice // *Plant Sci.* – 2002. – V. 163. – P. 515-523.
- Wang S.H., Zhou Z.Y., He Q.Y., Xiaopeng W., Song L., Lu X.* Nitric oxide alleviates the nickel toxicity in wheat seedlings // *Acta Bot. Yunnanica*. – 2007. – V. 29, № 1. – P. 115-121.
- Wu X., Zhu W., Zhang H., Ding H., Zhang H.J.* Exogenous nitric oxide protects against salt-induced oxidative stress in the leaves from two genotypes of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) // *Acta Physiol. Plant.* – 2011. – V. 33. – P. 1199-1209.
- Zhang Y., Wang L., Liu Y., Zhang Q., Wei Q., Zhang W.* Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na⁺/H⁺ antiport in the tonoplast // *Planta*. – 2006. – V. 224. – P. 545-555.
- Zhao K., Fan H., Zhou S., Song J.* Study on the salt and drought tolerance of *Suaeda salsa* and *Kalanchoe clavigramontiana* under iso-osmotic salt and water stress // *Plant Sci.* – 2003. – V. 165. – P. 837-844.
- Zhao M.G., Chen L., Zhang L.L., Zhang W.H.* Nitric reductase-dependent nitric oxide production is involved in cold acclimation and freezing tolerance in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2009. – V. 151. – P. 755-767.
- Zhou B., Guo Z., Xing J., Huang B.* Nitric oxide is involved in abscisic acid-induced antioxidant activities in *Stylosanthes guianensis* // *J. Exp. Bot.* – 2005. – V. 56. – P. 3223-3228.

Поступила в редакцию
23.05.2016 г.

RESPONSE OF BARLEY PLANTS OF VARIOUS GENOTYPES TO SOIL DROUGHT AND INFLUENCE OF NITRIC OXIDE DONOR

Yu. V. Karpets, Yu. E. Kolupaev, D. O. Grigorenko, K. M. Firsova

V. V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
(Kharkiv, Ukraine)
e-mail: plant_biology@mail.ru

The response to the soil drought and/or pretreatment with nitric oxide donor sodium nitroprusside (SNP) of three varieties of barley (*Hordeum vulgare* L.) – Gelios (low drought-resistant), Kozak (medium drought-resistant), and Monomakh (high drought-resistant) – have been investigated. 6-day influence of drought (decrease of humidity of soil to 25-30% of WHC) led to the oppression of linear growth and accumulation of plants biomass, more considerably these effects were shown in varieties Gelios and Kozak. The treatment with SNP in optimum concentration of 2 mM caused small increase of growth parameters of plants in the conditions of normal humifying. Spraying of plants by SNP before the action of drought softened its negative effect on the growth processes. Under the influence of drought in leaves of plants of all three varieties the content of water decreased, however this effect was more noticeable in variety Gelios. In the same variety the most essential increase of water deficiency under the drought was registered. The treatment of plants with SNP at the normal conditions practically did not influence indicators of water balance. At the same time in the conditions of drought under the influence of SNP the higher content of water in leaves was observed and water deficiency decreased. The drought caused the decrease of content of chlorophyll and carotenoids in the leaves of all three varieties. Under the influence of treatment with SNP in the physiologically normal conditions the increase of chlorophyll content was registered. The treatment of plants with SNP served to the preservation of pool of chlorophyll and carotenoids under the drought. This effect was more pronounced in the varieties Gelios and Kozak. The content of proline in the leaves in the normal conditions was the highest in variety Gelios and the lowest in variety Monomakh. The drought caused the increase of proline content in all three varieties approximately in the identical

proportion. The SNP did not exert significant impact on the proline content both in the normal conditions, and under the drought. The content of carbohydrates was higher in the plants of varieties Kozak and Monomakh. The drought affected the decrease of content of carbohydrates in all varieties. At the treatment of plants with SNP in the normal conditions the tendency to the increase of content of carbohydrates in leaves was observed, and under the drought the preliminary influence of SNP served to the preservation of their pool in all three varieties. The possible influence of nitric oxide donor on the protective systems of barley plants under the drought is discussed.

Key words: *Hordeum vulgare, drought, water deficiency, nitric oxide, resistance*

РЕАКЦІЯ РОСЛИН ЯЧМЕНЮ РІЗНИХ ГЕНОТИПІВ НА ҐРУНТОВУ ПОСУХУ І ДІЮ ДОНОРА ОКСИДУ АЗОТУ

Ю. В. Карпець, Ю. Є. Колупаєв, Д. О. Григоренко, К. М. Фірсова

*Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
(Харків, Україна)
e-mail: plant_biology@mail.ru*

Досліджували реакцію на ґрунтову посуху та/або передобробку донором оксиду азоту нітропрусидом натрію (НПН) трьох сортів ячменю (*Hordeum vulgare* L.): Геліос (слабопосухостійкий), Козак (середньопосухостійкий), Мономах (високопосухостійкий). 6-добовий вплив посухи (зниження вологості ґрунту до 25-30% від ПВ) призводив до пригнічення лінійного росту і накопичення біомаси рослин, більш помітно ці ефекти виявлялися у сортів Геліос і Козак. Обробка НПН в оптимальній концентрації 2 мМ викликала невелике збільшення ростових показників рослин в умовах нормального зволоження. Обприскування рослин НПН перед початком дії посухи пом'яксувало негативний її вплив на ростові процеси. Під впливом посухи в листках рослин всіх трьох сортів зменшувався вміст води, однак більш помітним цей ефект був у сорту Геліос. У цього ж сорту відзначалося найбільш істотне збільшення вододефіциту за посухи. Обробка рослин НПН у звичайних умовах практично не впливала на показники водного статусу. У той же час за умов посухи під впливом НПН в листках підвищувався вміст води і зменшувався вододефіцит. Посуха спричиняла зниження вмісту хлорофілу і каротиноїдів у рослин всіх трьох сортів. Під впливом обробки НПН за фізіологічно нормальних умов в листках рослин відзначалося збільшення вмісту хлорофілів. В умовах посухи обробка рослин НПН сприяла збереженню пулу хлорофілів і каротиноїдів. Більш вираженим цей ефект був у сортів Геліос і Козак. Вміст проліну в листках у звичайних умовах був найвищим у сорту Геліос і найнижчим у сорту Мономах. Посуха спричиняла збільшення вмісту проліну у всіх трьох сортів приблизно в однаковій пропорції. НПН не чинив достовірного впливу на вміст проліну як у звичайних умовах, так і під час посухи. Вміст цукрів був вищим у рослин сортів Козак і Мономах. Посуха викликала зниження вмісту цукрів у всіх сортів. За обробки рослин НПН у звичайних умовах спостерігалася тенденція до підвищення вмісту цукрів в листках, а під час посухи попередня дія НПН сприяла збереженню їх пулу в усіх трьох сортів. Обговорюється можливий вплив донора оксиду азоту на протекторні системи рослин ячменю за посухи.

Ключові слова: *Hordeum vulgare, посуха, вододефіцит, оксид азоту, стійкість*