

БИОЛОГИЯ

УДК 581.19:546

DOI: 10.21779/2542-0321-2022-37-3-93-99

Г.А. Абилова

Роль салициловой кислоты в преадаптации растений пшеницы к окислительному стрессу

*Дагестанский государственный университет; Россия, 367001, г. Махачкала,
ул. М. Гаджиева, 43а; gulyaraabilova@mail.ru*

В статье проведено исследование продолжительного влияния салициловой кислоты (СК) в концентрациях 0,1 мМ, 0,5 мМ, 1,0 мМ и 5,0 мМ на некоторые биометрические и биохимические показатели роста растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Безостая 1. Действие СК оценивали по длине и сырой массе корневой системы и побегов проростков, по активности перекисного окисления липидов (ПОЛ), содержанию фотосинтетических пигментов в листьях и пролина в листьях и корнях на 7-е сутки после начала проращивания семян при периодическом поливе растворами СК. Показано, что продолжительное действие СК в зависимости от концентрации оказывало разнонаправленное действие. Низкие концентрации СК (0,1–1,0 мМ) стимулировали рост проростков, способствуя увеличению размеров и массы надземной и подземной частей растений. Уровень пероксидации и содержание пролина в этих условиях сохранялись на уровне контроля. Высокие концентрации СК (5,0 мМ) тормозили процессы роста корней и побегов, усиливали в них процессы ПОЛ и накопление пролина. По сравнению с другими изученными показателями содержание хлорофиллов и каротиноидов при всех концентрациях СК практически не изменялось. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в зависимости от концентрации СК в клетках растений выполняет двоякую функцию: в невысоких концентрациях этот фитогормон регулирует процессы развития растений, являясь эффективным стимулятором роста; при высоких СК является стрессовым сигналом, тормозит процессы деления клеток, останавливает рост и осуществляет преадаптацию растений к стрессу.

Ключевые слова: *салициловая кислота, фитогормоны, активные формы кислорода, антиоксидантная система, биомасса, пролин.*

Салициловая кислота (СК) является фитогормоном и оказывает влияние на различные физиологические процессы в растениях, такие, как термогенез, прорастание семян, фотосинтез, транспирация [1]. Кроме того, она является компонентом сигнальных систем, ответственных за формирование адаптаций к действию абиотического стресса, вызванного высокими и низкими температурами [2; 3], тяжелыми металлами [4] и др. Однако многочисленные исследования выявили неоднозначный эффект СК на растения [5]. В зависимости от вида растений, концентрации, продолжительности и способа воздействия эффект СК может быть прямо противоположным.

Цель статьи – изучение влияния продолжительного воздействия СК в разных концентрациях на некоторые морфометрические и биохимические показатели проростков пшеницы.

Методика исследования

Объектом исследования служили растения пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Безостая 1. Семена пшеницы дезинфицировали в течение 10 минут в слабом растворе перманганата калия, промывали дистиллированной водой и далее проращивали в пластмассовых контейнерах на фильтровальной бумаге при периодическом поливе растворами СК (от 0,1 до 5,0 мМ) и дистиллированной водой (в контроле). Для приготовления рабочего раствора СК сначала растворяли в нескольких каплях этанола и доводили до конечного объема дистиллированной водой. Проростки росли в камере искусственного климата при температуре 21–23 °С, 16-часовом световом дне (освещённость – 3000 лк). На 7-е сутки эксперимента реакцию проростков на действие СК оценивали по следующим показателям: длине и сырой массе корневой системы и побегов, активности перекисного окисления липидов (ПОЛ) и содержанию фотосинтетических пигментов в листьях и пролина в листьях и корнях проростков.

Интенсивность ПОЛ в листьях проростков оценивали спектрофотометрическим методом по образованию вторичного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) – в цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Навеску ткани листьев (50 мг) гомогенизировали с 3 мл холодной дистиллированной воды, добавляли 3 мл ТБК в 20%-ную трихлоруксусную кислоту, в течение 30 мин нагревали на кипящей водяной бане, быстро охлаждали и центрифугировали 10 мин при 10000 g. Оптическую плотность супернатанта измеряли при длине волны 532 нм. Количество МДА в листьях выражали в мкМ/г сырой массы, учитывая коэффициент молярной экстинкции МДА $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [6].

Пигменты экстрагировали из листьев проростков пшеницы 96% этиловым спиртом. Для этого навеску листьев массой 50 мг растирали в ступке с 4 мл 96%-ного спирта, гомогенат центрифугировали 10 мин при 6000 g. Оптическую плотность определяли при длине волны 665 и 649 нм для хлорофиллов *a* и *b* и при 470 нм для каротиноидов. Содержание пигментов рассчитывали согласно [7].

Для определения свободного пролина листья (100 мг) и корни (50 мг) проростков гомогенизировали, надосадочную жидкость отделяли центрифугированием (10000 g) в течение 30 мин и определяли в ней свободный пролин нингидриновым методом [8].

Измерения оптической плотности производили на спектрофотометре ПЭ-5400 УФ (Экротех, Россия).

При определении размеров и массы проростков пшеницы в каждом варианте опыта анализировали по 10 растений. При оценке биохимических показателей повторность в пределах одной серии опыта составляла 4 измерения. Каждый опыт повторяли по 3 раза. В таблицах и на графиках приводятся средние значения и их стандартные ошибки. Достоверность различий оценивали с помощью критерия Стьюдента при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Рост является одним из самых важных и легко регистрируемых показателей физиологического состояния растений. Изменение роста и накопления биомассы проростками пшеницы в возрасте 7 суток зависело от концентрации СК (табл. 1). Оптимальными для корневой системы были растворы СК с концентрациями 0,1 и 0,5 мМ, когда длина корня достоверно увеличивалась на 32 и 12 % соответственно по сравнению с контролем. Аналогичные изменения наблюдались и у побега, но наибольших размеров

стебель достигал только при концентрации СК 0,5 мМ (на 17 % больше контроля). Изменения массы проростков имели ту же тенденцию, но были менее выражены.

Таблица 1. Влияние СК на длину и массу побегов и корней у 7-дневных проростков пшеницы сорта «Безостая 1»

Серия опытов	Побег		Корень	
	Длина (мм)	Масса (мг)	Длина (мм)	Масса (мг)
Дистиллированная вода	109 ± 2,2	74 ± 5,6	95 ± 4,3	52 ± 3,5
0,1 мМ СК	105 ± 1,0	69 ± 0,7	125 ± 0,7*	57 ± 3,0
0,5 мМ СК	127 ± 5,0*	78 ± 8,5	106 ± 1,5*	69 ± 1,6*
1,0 мМ СК	105 ± 2,0	70 ± 6,5	90 ± 9,5	55 ± 5,0
5,0 мМ СК	71 ± 0,7*	52 ± 1,4*	40 ± 3,0*	20 ± 4,0*

Примечание: здесь и далее звездочкой отмечены статистически значимые различия между средними контрольных и опытными значениями при $p \leq 0,05$.

СК в концентрации 5,0 мМ, напротив, подавляла процессы роста. Длина и масса побега были меньше контрольных значений соответственно на 35 и 30 %. Ингибирующий эффект СК в еще в большей степени проявился на корнях, где длина уменьшилась на 65 %, а масса – на 53 % по сравнению с контролем. Известно, что интенсивность ростовых процессов в растениях зависит от присутствия гормона индолилуксусной кислоты (ИУК), основной функцией которого является стимулирование роста побегов растений за счет апикального доминирования, фототропического роста, то есть роста к свету и положительного геотропизма [9]. Возможно, что высокая концентрация СК приводила к уменьшению содержания ИУК в клетках проростков пшеницы, что могло быть результатом либо торможения синтеза гормона, либо ускорения его распада под действием ИУК-оксидазы.

Особое значение для растений в изменяющихся условиях окружающей среды имеет пластичность фотосинтетического аппарата. В табл. 2 приводятся данные относительно содержания хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов в листьях проростков пшеницы, выросших на растворах СК разной концентрации. Фотосинтетическая активность растений тесно связана с размерами ассимилирующей поверхности листа и с содержанием фотосинтетических пигментов. По нашим данным во всех вариантах опыта наблюдалась слабая тенденция к увеличению содержания хлорофиллов *a* и *b*, за исключением концентрации СК 0,5 мМ, когда содержание обоих пигментов достоверно возрастало по сравнению с контролем. При этой же концентрации проростки достигали максимальных размеров.

Каротиноиды выполняют светособирающую и защитную функции [10], отводя избыточную энергию от хлорофиллов и препятствуя генерации синглетного кислорода в процессе фотосинтеза. При исследовании влияния СК содержание пигментов практически не изменялось и оставалось близким к контрольным значениям (табл. 2).

Таблица 2. Содержание пигментов в первом листе 7-дневных проростков пшеницы в зависимости от концентрации СК

Серия опытов	Хлорофилл «a»	Хлорофилл «b»	Каротиноиды
Дистиллированная вода	0,83 ± 0,011	0,24 ± 0,005	0,18 ± 0,003
0,1 мМ СК	0,85 ± 0,013	0,24 ± 0,004	0,18 ± 0,003
0,5 мМ СК	0,95 ± 0,030*	0,27 ± 0,008*	0,20 ± 0,006

1,0 мМ СК	$0,85 \pm 0,013$	$0,24 \pm 0,006$	$0,18 \pm 0,003$
5,0 мМ СК	$0,85 \pm 0,014$	$0,23 \pm 0,007$	$0,19 \pm 0,002$

В хлоропластах, митохондриях и пероксисомах клеток растений в обычных условиях постоянно образуются активные формы кислорода (АФК). Прооксидантно-антиоксидантное равновесие, наблюдаемое в нормальных условиях, при действии внешних факторов легко сдвигается в сторону накопления свободных радикалов, что вызывает в конечном итоге окислительный стресс [11]. В первую очередь воздействию АФК подвергаются клеточные мембраны, а именно липиды мембран, продукты окисления которых запускают защитные реакции клеток. Одним из конечных продуктов окисления мембран является МДА.

На рис. 1 представлены данные, полученные при определении образующегося МДА в листьях пшеницы, выращенных в течение 7 суток на растворах СК. При концентрации СК 0,1 мМ содержание МДА в клетках не изменилось по сравнению с контролем. Но по мере увеличения концентрации гормона активность ПОЛ нарастала и при концентрации СК 5,0 мМ была наибольшей и достоверно выше (на 34 %) уровня контроля.

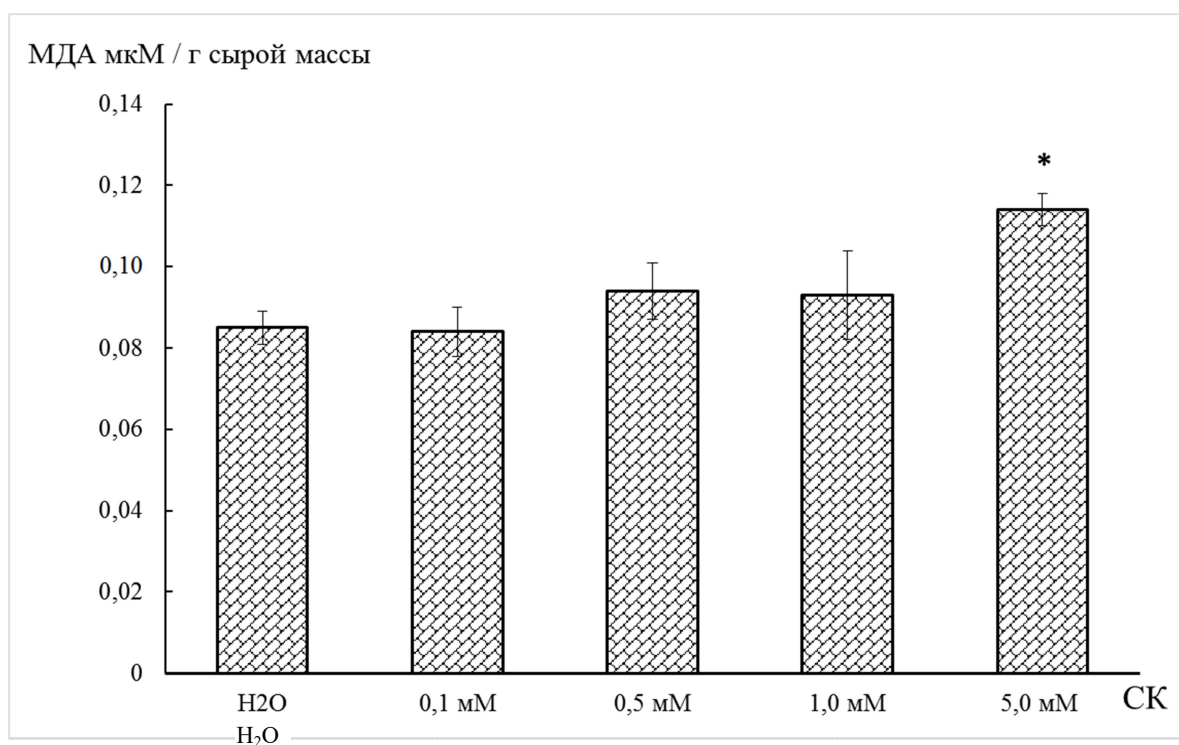


Рис. 1. Влияние СК на активность ПОЛ в листьях 7-дневных проростков пшеницы сорта Безостая 1

Таким образом, СК не влияла на потенциальную способность клетки к свободнорадикальному окислению при концентрациях в диапазоне 0,1–1,0 мМ, но способствовала образованию продуктов ПОЛ при концентрации 5,0 мМ.

Известно, что аминокислота пролин выполняет функции, связанные с регуляцией цветения, развития пыльцы, осмопротекторную функцию, также участвует в адаптации растений к действию стрессоров [12].

Листья и корни проростков, выращенных на дистиллированной воде, отличались по содержанию пролина: в клетках листьев содержание пролина было в 1,5 раза больше по сравнению с клетками корня (рис. 2). С ростом концентрации СК в среде культивирования уровень пролина монотонно возрастал и в клетках листьев при концентрации СК 1,0 и 5,0 мМ достигал достоверных отличий по сравнению с контролем (при концентрации СК 1,0 мМ – на 35 %, при концентрации 5,0 мМ – на 56 % выше контроля).

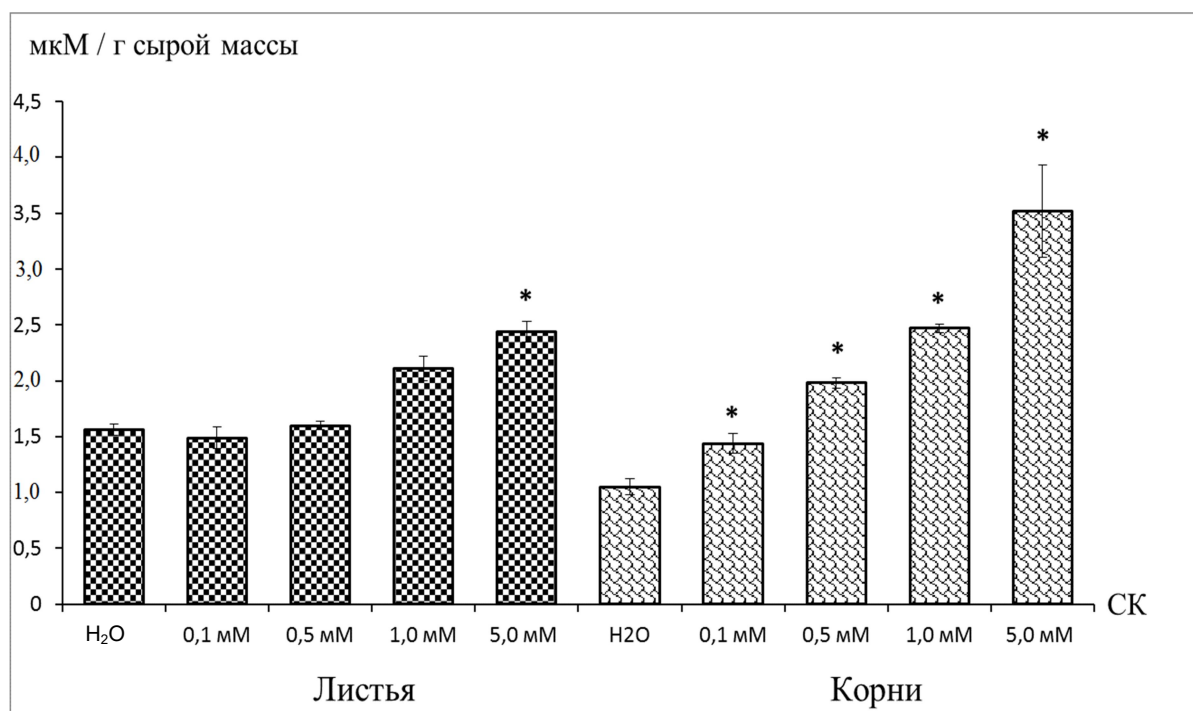


Рис. 2. Содержание пролина (мкМ/г сырой массы) в листьях и корнях 7-дневных проростков пшеницы, выращенных на растворах СК

В клетках корня динамика изменений содержания пролина была такой же, как и в листьях, но в клетках корня при всех концентрациях СК содержание пролина достоверно отличалось от контрольных. При этом уровень пролина в клетках корня был в 1,4 раза выше, чем в клетках листа при действии СК в концентрации 5,0 мМ.

Результаты нашего исследования являются подтверждением данных литературы о многофункциональности СК в растительном организме. Выступая в качестве сигнальной молекулы, СК усиливает генерации АФК и изменяет эффекты АФК, действуя разнонаправленно на несколько ключевых про- и антиоксидантных ферментов – каталазу, пероксидазу и супероксиддисмутазу [13].

В наших экспериментах по изучению влияния СК на размеры проростков пшеницы стимулирование роста при концентрации 0,5 мМ может быть обусловлено действием СК на активность ферментов, участвующих в образовании гормона ИУК. СК в высоких концентрациях подавляет активность антиоксидантных ферментов и способствует накоплению АФК, которые, кроме негативных, выполняют и другие функции, например, сигнальные, влияющие на экспрессию генов, запускающих защитные реакции организма. Непосредственным участником этих реакций может быть СК, которая функционирует как один из элементов единой сети [1; 13].

Таким образом, в зависимости от концентрации и длительности воздействия в клетках растений пшеницы СК выполняет двоякую функцию: при низких концентрациях этот фитогормон регулирует процессы развития растений, стимулируя их рост; при высоких – СК является стрессовым сигналом, который тормозит процессы деления клеток, останавливает рост и регулирует морфогенез растений.

Литература

1. Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Поляков А.К., Дмитриев А.П. Салициловая кислота и формирование адаптивных реакций растений на абиотические стрессоры: роль компонентов сигнальной сети // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 55. – С. 135–165.
2. Холопцева Е.С., Игнатенко А.А., Репкина Н.С., Таланова В.В. Особенности реакции растений пшеницы на кратковременное и продолжительное действие салициловой кислоты в условиях оптимальной и низкой температуры // Труды Карельского научного центра РАН. 2019. № 12. – С. 19–30.
3. Rai K.K., Pandey N., Rai S.P. Salicylic acid and nitric oxide signaling in plant heat stress // *Physiol. Plantarum*. 2020. V. 168, № 2. – Pp. 241–255.
4. Абилова Г.А. Влияние салицилата натрия на физиолого-биохимические показатели проростков пшеницы при действии тяжелых металлов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10, № 2. – С. 274–283.
5. Santisree P., Jalli L.C.L., Bhatnagar-Mathur P., Sharma K.K. Emerging roles of salicylic acid and jasmonates in plant abiotic stress responses // *Protective Chemical Agents in the Amelioration of Plant Abiotic Stress: Biochemical and Molecular Perspectives* / eds. by A. Roychoudhury, D.K. Tripathi. John Wiley & Sons Ltd. 2020. – Pp. 342–373.
6. Мерзляк М.К. Использование α -тиобарбитуровой кислоты при исследовании перекисного окисления липидов в тканях растений // Биологические науки. 1978. Вып. 9. – 132 с.
7. Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М. Практикум по курсу «Физиологические основы устойчивости растений к тяжелым металлам»: учебно-методическое пособие. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2013. – 63 с.
8. Bates L.S., Walden R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for stress studies // *Plant Soil*. 1973. Vol. 39. – Pp. 205–207.
9. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. – Уфа: Гилем, 2001. – 160 с.
10. Иванов Л.А., Иванова Л.А., Ронжина Д.А., Юдина П.К. Изменение содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях степных растений вдоль широтного градиента на Южном Урале // Физиология растений. 2013. Т. 60, № 6. – С. 856–864.
11. Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода: учебное пособие. – М.: КДУ, 2007. – 140 с.
12. Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О. Пролин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях // Вестник Харьковского аграрного университета. Сер.: Биология. 2014. Вып. 2 (32). – С. 6–22.
13. Khan M.I.R., Fatma M., Per T.S. et al. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants // *Front. Plant. Sci*. 2015. Vol. 6, article 462.

Поступила в редакцию 27 мая 2022 г.

UDC 581.19:546

DOI: 10.21779/2542-0321-2022-37-3-93-99

The Role of Salicylic Acid in the Pre-Adaptation of Wheat Plants to Oxidative Stress

G.A. Abilova

*Dagestan State University; Russia, 367001, Makhachkala, M. Gadzhiev st., 43a;
gulyaraabilova@mail.ru*

A long-term effect of salicylic acid (SA) at concentrations of 0.1 mM, 0.5 mM, 1.0 mM, and 5.0 mM on some biometric and biochemical growth parameters of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) variety Bezostaya 1 was studied. The action of SA was evaluated by the length and wet weight of the root system and shoots of seedlings, by the activity of lipid peroxidation (LPO), the content of photosynthetic pigments in leaves and proline in leaves and roots on the 7th day after the start of seed germination with periodic watering with SA solutions. It was shown that the long-term action of SA, depending on the concentration, had a multidirectional effect. The low concentrations of SA (0.1–1.0 mM) stimulated the growth of seedlings, contributing to an increase in the size and weight of the above-ground and underground parts of plants. The level of peroxidation and proline content under these conditions remained at the control level. High concentrations of SA (5.0 mM) inhibited the growth of roots and shoots, enhanced LPO processes and proline accumulation in them. Compared with other studied parameters, the content of chlorophylls and carotenoids at all concentrations of SA practically did not change.

The results obtained indicate that, depending on the concentration of SA in plant cells, it performs a dual function: at low concentrations, this phytohormone regulates the processes of plant development, being an effective growth stimulator; at high levels, SA is a stress signal, inhibits the processes of cell division, stops growth and, thus, pre-adapts plants to stress.

Keywords: *salicylic acid, phytohormones, reactive oxygen species, antioxidant system, biomass, proline.*

Received 27 May 2022