

РАЗНАЯ РОЛЬ ПРОЛИНА В ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМАХ C₃ И C₄ КСЕРО-ГАЛОФИТОВ РОДА ATRIPLEX В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА И ЗАСОЛЕНИЯ

З.Ф. Рахманкулова, Е.В. Шуйская, П.Ю. Воронин

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, zulfirar@mail.ru, evshuya@gmail.com

Аннотация. Исследовали содержание пролина, воды, Na⁺ и K⁺, параметры CO₂/H₂O газообмена у двух ксеро-галофитов рода *Atriplex* с разным типом фотосинтеза: *A. verrucifera* (C₃) и *A. tatarica* (C₄) в условиях умеренной засухи и засоления. Установлено, что пролин играет разную роль: у C₃ вида накапливается в условиях засоления, участвует в балансировке клеточного осмотического потенциала в связи накоплением ионов Na⁺, а у C₄ накапливается в условиях засухи, т.е. при недостатке ионов является основным осмолитом.

Ключевые слова: *Atriplex verrucifera*, *A. tatarica*, ионный и осмотический стресс, адаптивные стратегии, пролин

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-666-669

Введение. Спектр десяти ведущих семейств по содержанию галофитов и ксерогалофитов возглавляет сем. Chenopodiaceae, включающее виды с разным типом фотосинтетического метаболизма (C₃ и C₄). Обитают они, как правило, на аридных, полуаридных и засоленных территориях, т.е. они подвергаются осмотическому или одновременно осмотическому и ионному стрессу. Представители данного семейства из рода *Atriplex* устойчивы к засухе [Le Houérou, 2000] и к засолению [Bajji et al., 1998]. Эти виды широко распространены и представляют большой интерес для кормопроизводства и для восстановления маргинальных территорий [Le Houérou, 1992].

Одним из распространенных и хорошо изученных осмолитов в соле- и засухоустойчивых растениях является пролин, который способствует выживанию растений в условиях стресса и при этом не мешает нормальному метаболизму клеток [Sleimi et al., 2015]. В тоже время показано, что, поскольку растения демонстрируют разные стратегии при адаптации к засухе и засолению, усиление накопления пролина происходит не всегда [Bueno et al., 2017].

Механизмы засухо- и солеустойчивости, включая биосинтез осмолитов, антиоксидантных ферментов и соединений и т.д., являются крайне энергозатратными и тесно связаны с метаболическими путями фотосинтеза и дыхания [Ashraf, Harris, 2013]. Как известно, растения с C₃ и C₄ типом фотосинтетического метаболизма сильно отличаются по устойчивости к осмотическому стрессу. Известно, что C₄ растения обладают эффективным фотосинтетическим аппаратом в теплых и засушливых условиях обитания. Однако, в последнее время появляется все больше информации о слабой засухоустойчивости некоторых C₄ видов [Ghannoum, 2009]. Итак, на сегодняшний день противоречия относительно засухоустойчивости C₄ растений остаются нерешенными, несмотря на большой интерес к C₄ растениям в связи с их значительным вкладом в глобальный обмен углерода и продовольственную безопасность на фоне изменения климата [Ghannoum, 2009]. Целью данной работы явилось исследование роли пролина в процессе адаптации ксеро-галофитов рода *Atriplex* с разным типом фотосинтеза к ПЭГ-индуцированному осмотическому стрессу и при сочетании осмотического и ионного стресса, индуцированного NaCl.

Материалы и методы исследований. Исследовали два типичных представителя ксеро-галофитов сем. Chenopodiaceae с разными типами фотосинтеза: *Atriplex verrucifera* L. – суккулент, галофит с C_3 типом фотосинтеза и *A. tatarica* – факультативный галофит, ксерофит, рудерал, космополит с C_4 НАД-МЭ типом фотосинтеза.

Исследовали действие кратковременного (2-дневного) умеренного (-0.6 МПа) осмотического стресса (индуцированного ПЭГ) и аналогичного по осмотическому потенциалу засоления (200 мМ NaCl) на рост, содержание воды, ионов натрия и калия, пролина в побегах и параметры CO_2/H_2O газообмена.

Для определения содержания воды, растительные пробы высушивали двое суток при $+80$ °С. Уровень содержания Na^+ и K^+ в фотосинтезирующих органах определяли в водной вытяжке пробы (100 мг) на атомно-абсорбционном спектрометре (Hitachi 207, Япония). Содержание свободного пролина определяли с помощью кислого нингидринового реактива по методу [Bates et al., 1973], результаты рассчитывали на 1 г сухой массы.

Для определения фотосинтетического CO_2/H_2O -газообмена фрагмент листа помещали в термостатируемую при комнатной температуре листовую камеру и освещали оптоволоконным световодом от осветителя (KL 1500 LCD, “Shott”, Германия) с галогеновой лампой (150 Вт, “Philips”, Нидерланды) с интенсивностью ФАР в поле объекта 2000 мкмоль/(m^2 с). Стационарный CO_2/H_2O -газообмен листа измеряли с помощью одноканального ИК-газоанализатора (LI-820, “LICOR”, США) в открытой схеме. Транспирацию листа (E) рассчитывали на основании разности влажности газа на входе и выходе из листовой камеры. В данной установке в опорном газовом потоке на входе в листовую камеру поддерживали известную постоянную влажность с помощью увлажнителя LI-610 (“LICOR”, США). Для определения влажности на выходе из листовой камеры использовали психрометрический датчик HMP50 (“Vaisala INTERCAP”, Финляндия).

Результаты и обсуждение. Известно, что устойчивые растения используют разные адаптивные механизмы борьбы со стрессом, поскольку механизмы устойчивости в покрытосеменных развивались много раз и по-разному [Flowers et al., 2010], и представляют собой комплекс физиологических особенностей, которые развились в ответ на сложные многофакторные условия окружающей среды [Bromham, 2014]. Засухо- и солеустойчивые виды способны поглощать воду, создавая низкий осмотический потенциал за счет накопления неорганических и органических растворенных веществ, в том числе пролина [Bueno et al., 2017; Hassine et al., 2008].

У двух исследованных в данной работе видов в условиях водного стресса и засоления выявлены разные адаптивные стратегии. В условиях осмотического стресса (индуцированного ПЭГ) и равного по силе осмотического и ионного стресса (индуцированного NaCl) большую устойчивость по показателям роста, содержанию воды в тканях растений, ионов K^+ продемонстрировал C_3 вид *A. verrucifera*. В тоже время у данного вида, при добавлении в среду питания 200 мМ NaCl, наблюдалось увеличение содержания пролина в 10 раз. Вероятно, высокое содержание ионов натрия, калия и пролина обеспечивало удержание воды в тканях растений и, как следствие, открытие устьиц, высокую интенсивность видимого фотосинтеза и сохранение ростовых показателей (таблица).

У C_4 вида *A. tatarica* также имело место увеличение содержания пролина в два раза, но в условиях ПЭГ индуцированной засухи. Накопление пролина у *A. tatarica* происходило на фоне снижения содержания в тканях растений воды, ионов натрия и калия (табл.), снижения интенсивности видимого фотосинтеза (на 43%), транспирации (на 23%) и, как следствие, роста биомассы (в 2 раза). Таким образом, несмотря на свою

принадлежность к C_4 растениям *A. tatarica* проявила слабую устойчивость к осмотическому стрессу и накапливала пролин при недостатке ионов натрия и калия в тканях, в то время как у C_3 вида пролин накапливался при избытке ионов натрия.

Таблица.

Содержание сырой биомассы, воды, пролина и ионов натрия и калия у *Atriplex verrucifera* (C_3) и *A. tatarica* (C_4) в условиях засухи (–0.6 МПа) и засоления (200 мМ NaCl)

Параметры	<i>Atriplex verrucifera</i>			<i>A. tatarica</i>		
	Контроль	NaCl	ПЭГ	Контроль	NaCl	ПЭГ
Сырая биомасса, г	0.20±0.02 ^a	0.19±0.02 ^a	0.19±0.01 ^a	0.73±0.15 ^b	0.38±0.04 ^c	0.35±0.08 ^c
Содержание воды, г/г сухой массы	7.4±0.3 ^a	7.7±0.2 ^a	6.9±0.5 ^a	11.9±0.5 ^b	11.7±0.9 ^b	6.2±0.8 ^a
Содержание пролина, мг/г сухой массы	0.28±0.01 ^a	1.66±0.09 ^c	0.42±0.06 ^a	2.73±0.08 ^b	2.59±0.14 ^b	4.97±0.13 ^d
Содержание Na ⁺ , ммоль/г сухой массы	1.06±0.17 ^a	2.21±0.05 ^b	0.76±0.16 ^a	0.79±0.01 ^a	1.53±0.03 ^b	0.51±0.04 ^c
Содержание K ⁺ , ммоль/г сухой массы	3.37±0.40 ^a	3.22±0.15 ^a	2.69±0.35 ^a	3.15±0.04 ^a	2.36±0.13 ^b	2.34±0.05 ^b

Разными латинскими буквами отмечены достоверные различия на уровне $p < 0.05$.

Итак, у C_3 и C_4 ксеро-галофитов рода *Atriplex* выявлены две разные стратегии выживания в условиях водного дефицита и засоления. C_3 вид *A. verrucifera* проявил себя как более устойчивый к ПЭГ индуцированному осмотическому стрессу и совместному действию ионного и осмотического стресса, а вид *A. tatarica* был более продуктивным в контрольных условиях, но менее устойчивый к обоим видам стресса. Установлено, что пролин играет разную роль: у C_3 вида накапливается в условиях засоления, участвует в балансировке клеточного осмотического потенциала в связи накоплением ионов Na⁺ в вакуоле, а у C_4 вида накапливается в условиях засухи, т.е. при недостатке ионов является основным осмолитом.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований «17-04-00853-а».

Литература

- Ashraf M., Harris P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: An overview // *Photosynthetica*. – 2013. – V. 51. – P. 163–190.
- Bajji M., Kine, J. M., Lutts S. Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* L. and their corresponding callus cultures // *Plant Science*. – 1998. – V. 137. – P. 131–142.
- Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // *Plant Soil*. – 1973. – V. 39. – P. 205–207.
- Bromham L. Macroevolutionary patterns of salt tolerance in angiosperms // *Annals of Botany*. – 2014. – V. 115. – P. 333–341.
- Bueno M., Lendinez M. L., Aparicio C., Cordovilla M. P. germination and growth of *Atriplex prostrata* and *Plantago coronopus*: Two strategies to survive in saline habitats // *Flora*. – 2017. – V. 227 – P. 56–63.
- Flowers T.J., Galal H.K., Bromham L. Evolution of halophytes: multiple origins of salt tolerance in land plants // *Functional Plant Biology*. – 2010. – V. 37. – P. 604–612.
- Ghannoum O. C_4 photosynthesis and water stress // *Annals of Botany*. – 2009. – V. 103. – P. 635–644.

Hassine A.B., Ghanem M.E., Bouzid S., Lutts S. An inland and a coastal population of the Mediterranean xero-halophyte species *Atriplex halimus* L. differ in their ability to accumulate proline and glycinebetaine in response to salinity and water stress // J. Exp. Bot. – 2008. – V. 59. – P. 1315–1326.

Le Houérou H. Utilization of fodder trees and shrubs in the arid and semiarid zones of West Asia and North Africa // Arid Soil Research and Rehabilitation. – 2000. –V. 14. –P. 101–135.

Le Houérou H.N. The role of saltbushes (*Atriplex* spp.) in arid land rehabilitation in the Mediterranean Basin: a review // Agrofor. Syst. – 1992. – V. 18. – P. 107–148.

Sleimi N., Guerfali S., Bankaji I. Biochemical indicators of salt stress in *Plantago maritima*: implications for environmental stress assessment // Ecol. Indic. – 2015. –V. 48. – P. 570–577.

DIFFERENT ROLE OF PROLINE IN THE PROTECTIVE MECHANISMS OF C₃ AND C₄ XERO-HALOPYTES OF ATRIPLEX GENUS UNDER DROUGHT AND SALINITY

Z.F. Rakhmankulov, E.V. Shuyskaya, P.Yu. Voronin

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, zulfirar@mail.ru,
evshuya@gmail.com

Abstract. The proline, water, Na⁺ and K⁺ ions contents and CO₂/H₂O gas exchange parameters were studied on two xero-halopytes of the genus *Atriplex* with different photosynthesis types: *A. verrucifera* (C₃) and *A. tatarica* (C₄) under moderate drought and salinity conditions.

It was found that proline plays different roles: it accumulates in C₃ species under salinity conditions, participates in balancing the cellular osmotic potential in response to Na⁺ accumulation, while in C₄ species it accumulates under drought conditions, it is the main osmolyte under Na⁺ deficit.

Keywords: *Atriplex verrucifera*, *A. tatarica*, ionic and osmotic stresses, adaptive strategies, proline