

СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ СКРИНИНГА РЕАКЦИИ ЛИСТОВОГО АППАРАТА ПШЕНИЦЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ОСМОТИЧЕСКОМУ СТРЕССУ

В.Ю. Ступко¹, Н.В. Зобова¹, Н.А. Гаевский²

¹Красноярский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Красноярск, Россия, zobovnat@mail.ru

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия, nikgna@gmail.com

Аннотация: На примере показателей фотосинтетической активности генотипов яровой мягкой пшеницы, различающихся по степени устойчивости к осмотическому стрессу, проведено сравнение применимости расчетных параметров динамики фотосинтеза для наиболее быстрого и достоверного скрининга реакции фотосинтетического аппарата на стресс. Показатель Ек, рассчитанный по углу наклона световой кривой фотосинтеза, отражает ее особенности, подходит для анализа и представления большого объема данных в подобных исследованиях.

Ключевые слова: пшеница, световая кривая фотосинтеза, осмотический стресс

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-733-737

Оценка устойчивости культурных растений к осмотическому стрессу является неотъемлемой задачей селекционной работы во многих регионах России и за ее пределами. В последние годы наряду с классическими ревалентными показателями устойчивости растений к осмотическому стрессу (водный потенциал, устьичная проводимость, накопление пролина и др.) широко используют реакции фотосинтетического аппарата [Medrano, 2002; Ralph, 2005; Woo, 2008; Ступко, 2013]. Включению показателей фотосинтеза в перечень тест-реакций способствовало развитие методов регистрации флуоресценции хлорофилла и появление широкого спектра приборов, среди которых приоритетом пользуются РАМ-флуориметры. Эти приборы позволяют, не нарушая целостность объекта, параллельно исследовать такие важные показатели, как квантовый выход ФС2, скорость нециклического транспорта электронов, светозависимое и светонезависимое нефотохимическое тушение флуоресценции в режиме световой кривой фотосинтеза или во время индукционного периода.

Большинство полученных результатов указывают на адекватность выводов, сделанных на основе исследований флуоресценции хлорофилла. В тоже время не следует игнорировать работы, в которых авторы получили противоречивые результаты при оценке устойчивости растений к осмотическому стрессу, основанной на классических и флуоресцентных методах [например, Guretzki, 2013].

Целью данной работы стало представление и обсуждение собственного опыта применения РАМ-флуориметрии для скрининга сортов яровой пшеницы на устойчивость к осмотическому стрессу.

Сорта яровой мягкой пшеницы Саратовская 29 и Мильтурум 533, характеризуются, как устойчивые, селекционная линия «Минуса» – как не устойчивый генотип [Ступко, 2013]. Объект исследования – 10-ти дневные проростки выращивали в условиях светокультуры в растильнях объемом 2 дм³ на керамзите. Схема опыта: «норма» – полив до 60% от полной влагоемкости (ПВ) субстрата; «засоление» – NaCl

1,68% полив до 60% ПВ; «засуха» – прекращение полива за 7 суток до измерения параметров проростков. Повторность для каждого сорта – 25-ти кратная. Флуоресценцию хлорофилла регистрировали в средней трети части листовой пластины, показатели фотосинтеза которой имеют минимальную вариабельность [Ступко, 2013], Использовали РАМ-флуориметр IMAGING-PAM M-Series MAXI Version (HeinzWalzGmbH, Германия) в режиме записи световой кривой фотосинтеза (СКФ). Оценивали плотность потока фотонов (ППФ) возбуждающего света в интервале 20-395 мкмоль×м⁻²×с⁻¹; экспозиция между импульсами 30 сек. Расчет параметров СКФ: угол наклона начального участка кривой (α), максимальная скорость транспорта электронов (СТЭ_{макс}), минимальная насыщающая интенсивность ФАР (E_к), проводили согласно [Ralph, 2005]. Статистическая обработка результатов проведена с использованием «Statistica 6.0». Для всех показателей рассчитывали среднюю величину и стандартную ошибку, достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

Результаты определения максимального квантового выхода ФС2 ($Y(II)_{\text{макс}}$) приведены в табл. 1.

Таблица 1.

Сравнение $Y(II)_{\text{макс}}$ у 10-дневных проростков пшеницы в контрольных и стрессовых условиях (среднее значение ± стандартная ошибка)

Генотип	Условия культивирования проростков		
	полив до 60% ПВ	NaCl 1,68%	отсутствие полива 7 суток
Мильтурум 533	0,659±0,012	0,671±0,018	0,657±0,026
Саратовская 29	0,678±0,008	0,706±0,014	0,691±0,010
Минуса	0,704±0,006*	0,702±0,009	0,698±0,007

Параметр $Y(II)_{\text{макс}}$ показал крайне низкую вариабельность средних значений (0,685±0,006, Cv=2,8%). Достоверное увеличение $Y(II)_{\text{макс}}$ в условиях умеренного полива установлено только у линии «Минуса» по сравнению с двумя другими генотипами. В пределах одного генотипа различия $Y(II)_{\text{макс}}$, связанные с условиями культивирования, недостоверны.

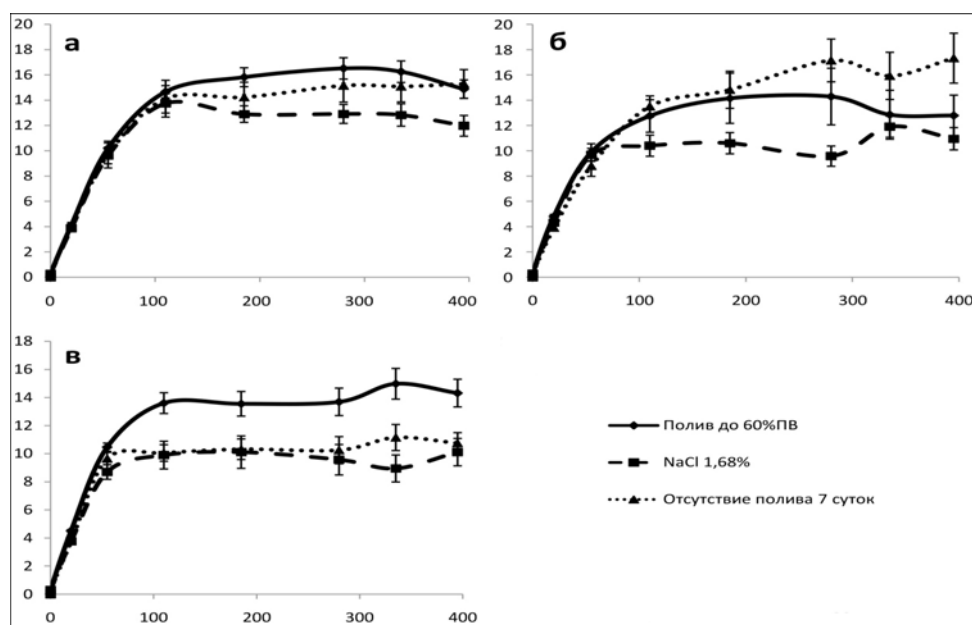


Рисунок. Изменение СТЭ через ФС2 листовых пластинок 10-дневных проростков генотипов пшеницы: а – Мильтурум 533, б – Саратовская 29, в – Минуса. По оси абсцисс – плотность потока фотонов ФАР, мкмоль фотонов×м⁻²×с⁻¹; по оси ординат – скорость транспорта электронов, мкмоль электронов×м⁻²×с⁻¹.

Качественные и количественные различия световых кривых фотосинтеза приведены на рисунке и в табл. 2.

Различия исследованных генотипов пшеницы проявилось как в видимом характере световых кривых транспорта электронов (рисунок), так и в значениях максимальной скорости (СТЭ_{макс}) и пороговой насыщающей интенсивности света (Ек) (табл. 2). Тангенс угла наклона световой (α) в отличие от указанных параметров не зависел от условий культивирования, но мог различаться у генотипов, например, у сорта Мильтурум 533 при поливе до 60% ПВ (табл. 2).

Таблица 2.

Параметры световых кривых транспорта электронов (СТЭ) у 10-дневных проростков пшеницы в контрольных и стрессовых условиях (среднее±стандартная ошибка)

Генотип	Параметры кривых СТЭ	Условия культивирования проростков		
		полив до 60% ПВ	NaCl 1,68%	отсутствие полива 7 суток
Мильтурум 533	Ек	55,5±3,8	42,5±1,9**	57,0±7,5 ^б
	СТЭ _{макс}	16,2±0,8	13,0±0,7**	15,3±1,2 ^б
	α	0,29±0,01	0,31±0,02	0,29±0,03
Саратовская 29	Ек	35,0±3,2	33,0±1,7	79,2±5,0* ^б
	СТЭ _{макс}	13,7±2,0	10,8±0,8	17,3±2,1 ^б
	α	0,34±0,02	0,33±0,01	0,24±0,03* ^б
Минуса	Ек	47,7±3,4	32,3±3,6**	35,8±3,1*
	СТЭ _{макс}	14,4±1,0	9,9±1,0**	10,7±0,8*
	α	0,33±0,01	0,31±0,02	0,30±0,01

Примечание: достоверно отличается от контроля *P<0,05, **P<0,01, б – достоверные отличия между вариантами стресса – P<0,01.

В вопросе оценки ФА долгое время лидирующую позицию занимал относительный показатель – максимальный квантовый выход ФС2 [Guretski, 2013]. Однако данный параметр не всегда отражал влияние стрессора. Так в работе, посвященной сравнению релевантности различных морфологических и физиологических показателей в выявлении реакции растительного организма на стресс [Guretski, 2013], как и в ряде других исследований, упомянутых авторами данной статьи, не установлены значимые различия по величине максимального квантового выхода ФС2 в условиях непродолжительного (до 10 суток) стрессового воздействия. Результаты, полученные нами на различных по устойчивости к осмотическому стрессу генотипах пшеницы, полностью подтверждают это положение (табл. 1).

Параметры световой кривой транспорта электронов через ФС2 у исследованных образцов, напротив, указывают на достоверные изменения фотосинтетической активности в условиях солевого стресса у всех генотипов пшеницы, а у линии Минуса в условиях засоления и засухи (рисунок, табл. 2).

В работе [Guretski, 2013], как и в нашей работе, для оценки уровня осмотического стресса у растений использованы графики светового транспорта электронов, а также световые зависимости фотохимического и не фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла. Однако, как было отмечено выше, эти оценки были противоречивыми. Причиной этого могла стать высокая плотность возбуждающего света (396-801 мкмоль фотонов×м⁻²×с⁻¹), исследованная в приведенной работе [Guretski, 2013], при которой к осмотическому стрессу мог добавиться окислительный стресс. На примере полученных нами световых кривых скорости электронного транспорта видно, что после достижения плато с ростом облученности объекта вариабельность показателя увеличивается (рисунок).

По нашему мнению, при скрининге генотипов на устойчивость к осмотическому стрессу более логично использовать такие показатели как $СТЭ_{\text{макс}}$ и $Ек$. Показателю $Ек$ следует отдать предпочтение, так как его рассчитывают на основании $СТЭ_{\text{макс}}$ и тангенса угла наклона световой кривой α ($Ек=СТЭ_{\text{макс}}/\alpha$, [Ralph, 2005]). Поскольку его величина зависит от работы фотосинтетического аппарата в условиях светового лимитирования и светового насыщения. Такой подход к оценке устойчивости генотипов пшеницы в условиях осмотического стресса не приводит к нивелированию имеющихся различий полученных результатов, в отличие от усреднения данных флуоресцентного анализа на участке плато световой кривой транспорта электронов, как сделано в работе [Guretzki, 2013]. Выбор наиболее значимого показателя также оправдан при скрининге большого количества генотипов.

Таким образом, запись и анализ параметров световых кривых фотосинтеза является достаточно точным и удобным методом оценки состояния фотосинтетического аппарата растений в условиях стресса. Преимущество такого анализа достигается за счёт замены большого объема графического материала (световых кривых) на интегральный (количественный) показатель $Ек$. Применение рассмотренных показателей световых кривых фотосинтеза позволило установить достоверное снижение фотосинтетической активности у генотипов Мильтурум 533 и Минуса под влиянием засоления, а у последнего генотипа также под влиянием засухи.

Литература

Ступко В.Ю., Зобова Н.В., Гаевский Н.А. Биофизические подходы в оценке стрессоустойчивости яровой пшеницы // Сиб. вестник с.-х. науки. – 2013. – № 1. – С. 18–23.

Терлецкая Н.В., Зобова Н.В., Ступко В.Ю., Исакова А.Б., Луговцова С.Ю., Курманбаева М.С. Изучение устойчивости фотосинтетического аппарата мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.) и ее диких сородичей к абиотическим стрессорам *in vivo* и *in vitro*: Монография. – Алматы, 2017. – 172 с.

Guretzki S., Papenbrock J. Comparative analysis of methods analyzing effects of drought on the herbaceous plant *lab purpureus* // Journal of Applied Botany and Food Quality. – 2013. – V. 86. – P. 47–54.

Medrano H., Escalona, J.M., Bota, J., Gulías, J., Flexas, J. Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: Stomatal conductance as a reference parameter // Ann. Bot. – 2002. – V. 89. – P. 895–905.

Ralph P.J., Gademann R. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity // Aquatic Botany. – 2005. – V. 82. – P. 222–237.

Terletskaia N.V., Zobova N.V., Stupko V.Y., Shuyskaia E.B. Growth and photosynthetic reactions of different species of N.V. wheat seedlings under drought and salt stress // Period. bot. – 2017. – V. 119, No. 1. – P. 37–45.

Woo N.S., Badger, M.R., Pogson, B.J. A rapid, non-invasive procedure for quantitative assessment of drought survival using chlorophyll fluorescence // Plant Meth. – 2008. – V. 4. – P. 27.

COMPARISON OF SCREENING STUDY METHODS OF WHEAT LEAF RESPONSE TO THE OSMOTIC STRESS

V.Yu. Stupko¹, N.V. Zobova¹, N.A. Gayevsky²

¹Krasnoyarsk Research Institute of Agriculture «Federal Research Center «Krasnoyarsk Scientific Center of the SB RAS», Krasnoyarsk, Russia, *zobovnat@mail.ru*

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Siberian Federal University", Krasnoyarsk, Russia, *nikgna@gmail.com*

Abstract: The comparison of calculated parameters of photosynthesis dynamic was conducted on the base of photosynthetic activity data of spring soft wheat genotypes differed in osmotic-tolerance level to find out the parameters that is most appropriate for fast and significant screening study of photosynthetic apparatus response to stress. Coefficient E_k , based on the angle of rapid light curve rise, represents its features and is suitable for analysis and presentation of the huge data amount in similar researches.

Keywords: *wheat, photosynthesis light curve (RLC), osmotic stress*