
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ ГОРЧИЦЫ*

А.Л. Гринин¹, И.А. Коршунов¹,
В.П. Холодова¹, Вл.В. Кузнецов^{1,2}

¹Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия, 127276

²Кафедра ботаники, физиологии,
патологии растений и агробиотехнологии
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия, 117198

Проведена сравнительная оценка устойчивости сортов горчицы сарептской (*Brassica juncea Czern.*) при воздействии засоления на стадии прорастания и роста молодых растений. Изучены некоторые механизмы адаптации растений к воздействию NaCl и установлена непрямая взаимосвязь между поступлением ионов хлора в листья растений и содержанием в них пролина. Было обнаружено падение пролина после 10—15 суток засоления растений горчицы и установлена корреляция между содержанием пролина и активностью фермента пролиндегидрогеназы.

Ключевые слова: горчица сарептская (*Brassica juncea Czern.*), пролин, пролиндегидрогеназа.

Введение. Горчица сарептская (*Brassica juncea Czern.*, семейство *Brassicaceae*) — ценное сельскохозяйственное растение. Общеизвестно ее применение в качестве масличной культуры. Горчичное масло широко используют в пищевых целях, а также для технических нужд. В перспективе возможна переработка его в биодизель — экологически чистое возобновляемое топливо [1].

В России *Brassica juncea* культивируется преимущественно на территории Среднего Поволжья в условиях аридных зон, где около половины всех распаханых земель подвержены засолению. Поскольку горчица сарептская, как и большинство других сельскохозяйственных растений, является гликофитом, ее устойчивость к засолению относительно невелика.

Гликофитами называют растения пресных местообитаний с ограниченной способностью адаптироваться к засолению в процессе индивидуального развития [2].

Воздействие хлоридного засоления значительно нарушает корневое питание и водный режим гликофитов, ингибирует процесс фотосинтеза, в результате чего подавляется рост растений и их урожайность [2; 3]. Избыточное поступление солей (чаще всего хлористого натрия) в клетки растений при засолении сдвигает ионный баланс, инициирует избыточный синтез активных форм кислорода (АФК), нарушает структуру и функции макромолекул. Однако помимо прямого токсичного действия засоление вызывает у растений осмотический стресс, обусловленный резким падением водного потенциала корнеобитаемой среды растения [4].

* Работа была частично поддержана грантом РФФИ 07-04-00995 и Программой Президиума РАН «Клеточная и молекулярная биология».

В ответ на нарушение баланса неорганических ионов и водного статуса в растении включается ряд антистрессорных механизмов, к которым относятся активация поглощения солей из среды с целью восстановления потока воды в растении и сопровождающая этот процесс аккумуляция в клетках совместимых осмолитов [5].

Целью настоящей работы являлись оценка устойчивости к воздействию хлористого натрия и выявление сортовых различий растений горчицы сарептской, а также изучение таких механизмов адаптации этого растения к засолению, которые связаны с аккумуляцией ионов и одного из самых распространенных у растений совместимых осмолитов, каким является иминокислота пролин.

Методика. Работа выполнена на растениях 4 сортов горчицы сарептской (*Brassica juncea Czern*): Донской, Лера, Славянка и Скороспелка.

При изучении влияния NaCl на прорастание семян горчицы и рост корней проростков семена поверхностно дезинфицировали в течение 5 минут 70% этанолом, обмывали дистиллированной водой и помещали на 20 минут в 10—20% раствор гипохлорита натрия, после чего интенсивно (многократно) промывали дистиллированной водой. Дезинфицированные семена проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге, на дистиллированной воде (контроль) и растворах NaCl в концентрации 100, 150 и 200 мМ в течение 6 суток при температуре +25 °С. Для каждой концентрации имели по три повторности. Всхожими считали семена при длине корня проростка не менее 5 мм с раскрывающимися семядолями. Длину корня проростка оценивали на 6-й день проращивания.

В опытах на молодых растениях дезинфицированные семена проращивали в кюветках с перлитом в течение 7 суток, после чего проростки пересаживали в пластиковые стаканчики объемом 200 мл, покрытые сверху фольгой, по одному растению в стаканчик. Дальнейшее выращивание проростков осуществляли на модифицированной среде Хогланда-Снайдерс при освещенности $350 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$ фотопериоде 12/12 при температуре 23—25/18—20 °С.

По достижении растениями 4-недельного возраста в питательный раствор опытных вариантов вносили NaCl в концентрации 100 и 150 мМ, проводя еженедельную смену питательной среды. Действие засоления продолжалось в течение 20 суток, фиксацию растительного материала проводили в 12—14 час. На 5-е, 10-е, 15-е и 20-е сутки воздействия листья 3—4 ярусов фиксировали жидким азотом и хранили при -70 °С.

Действие NaCl оценивали по накоплению биомассы растений, аккумуляции ионов Cl в листьях, содержанию свободного пролина и активности пролиндегидрогеназы. Оценку биомассы — отдельно для листьев и корней — проводили на 20-е сутки опыта.

Для определения содержания ионов Cl в тканях растений навеску свежей массы листьев (100—300 мг) в течение 10 мин кипятили в дистиллированной воде (10 мл). После остывания объем пробы доводили дистиллированной водой до исходного значения, фильтровали. Приготовленные пробы сразу использовали для анализа в них Cl⁻ или хранили в замороженном состоянии для более позднего

анализа. Концентрацию Cl проводили с помощью ионселективного электрода на ионолаузере EA 940 (фирма Orion, USA).

Содержание свободного пролина определяли с применением кислого нингидринового реактива (30 мл ледяной уксусной кислоты + 20 мл 6М H_3PO_4 + 1,25 г нингидрина) по методу Bates et al. [6]. Пролин экстрагировали из 200 мг свежей растительной ткани листьев в 10 мл кипящей дистиллированной воды в течение 10 мин.

После фильтрования к 1 мл экстракта добавляли по 1 мл ледяной уксусной кислоты и нингидринового реактива. Пробы инкубировали в течение 1 часа в кипящей водяной бане, после чего их быстро охлаждали во льду. Интенсивность окраски измеряли при 520 нм на спектрофотометре Thermo Spectronic Genesys 20 (фирма Thermo Spectronic).

Содержание пролина рассчитывали с помощью калибровочной кривой, используя для ее построения пролин фирмы Serva, и выражали в микромолях на 1 г свежей массы. Определения проводили в 3-х биологических повторностях.

Для определения активности фермента пролиндегидрогеназы (ЕС:1.5.1.2) (ПДГ) [7] растительный материал (1 г), фиксированный в жидком азоте, растирали в предварительно охлажденной ступке с 0,1 М Трис-НСl буфером с добавкой поливинилпирролидона (PVP) из расчета 0,2 г на 1 г свежей массы ткани и 1 мМ дитиотреитола (общий объем 1 мл). Гомогенат центрифугировали при 11000 об/мин в течение 10 мин при температуре +4°C (центрифуга Eppendorf centrifuge 5415 R, ФРГ), декантированный экстракт использовали для определения активности ПДГ.

Активность ПДГ оценивали по скорости использования $НАД^+$ на окисление пролина, измеряя увеличение концентрации образующегося НАДН в единицу времени. Реакционная смесь общим объемом 1 мл содержала 0,2 мл растительного экстракта, 0,5 М Na_2CO_3 — $NaHCO_3$ буфера, рН 10,3, 5 мМ $НАД^+$ и 75 мМ пролина.

Запись светопоглощения при 340 нм проводили в течение 5—10 мин с помощью регистрирующего спектрофотометра Specord (ГДР). Расчет скорости реакции вели по начальному линейному участку регистрационной кривой, выражая скорость в нмоль $НАД^+$ в мин. на г свежей массы ткани (или на 1 мг белка). Для калибровки использовали НАДН фирмы Serva.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы Microsoft Office Excel 2003, данные обрабатывались на основе трех опытов с трехкратной биологической и аналитической повторностями.

Результаты и обсуждение. На первом этапе работы было изучено влияние засоления на всхожесть семян 4-х сортов горчицы и рост корней проростков. В контроле, без внесения NaCl, изучаемые сорта различались по всхожести: наиболее высокую показали семена сорта Донской (86,5%), а наименьшую — семена сорта Славянка (55,9%) (табл. 1). Заметно различались изучаемые сорта горчицы также и по скорости роста корней проростков контрольного варианта. На 6-й день прорастания наибольшей длины достигли корни проростков сорта Скоропелка (46 мм), на 10 мм короче оказались проростки сорта Лера (табл. 1).

Таблица 1

Всхожесть семян и длина корней проростков 4-х сортов горчицы сарептской

Сорт	Всхожесть семян, %	Длина корней проростков, мм
Донской	86,5	40,7 ± 8,11
Лера	72,5	36,3 ± 9,25
Скороспелка	65,7	46,0 ± 9,39
Славянка	55,9	39,4 ± 8,51

Дальнейшее сравнение сортов по устойчивости к засолению проводили по отношению к данным, полученным для семян собственного контрольного варианта (табл. 2). Действие хлористого натрия в концентрации 100 мМ и 150 мМ даже несколько повысило всхожесть семян сортов Скороспелка и Славянка (100 мМ — до 116,1% и 134,2%, а 150 мМ — до 109,3% и до 107,4% от контроля соответственно). При использовании высшей концентрации NaCl — 200 мМ — всхожесть семян сорта Славянка снизилась лишь на 4% от контроля, тогда как семена сорта Скороспелка потеряли ¼ своей всхожести. От обоих этих сортов сильно отставали два других испытанных сорта горчицы — Донской и Лера. При самой высокой концентрации NaCl — 200 мМ — всхожесть их семян составляла всего 64% и 65% от контроля соответственно.

Таблица 2

Влияние NaCl на всхожесть семян и длину корней проростков, % от контроля

Сорт	Всхожесть семян			Длина корней проростков		
	NaCl, мМ					
	100	150	200	100	150	200
Донской	106,5	86,7	64,2	74,2	32,5	24,4
Лера	59,6	72,6	65,1	54,2	29,5	21,5
Скороспелка	116,1	109,3	76,1	65,0	36	17,1
Славянка	134,2	107,4	93,9	64,0	41,2	25,0

Ингибирование роста корней проростков происходило при всех испытанных концентрациях NaCl (табл. 2), при этом отчетливо проявлялось уменьшение длины корня с увеличением концентрации соли. При 200 мМ NaCl длина корней проростков не превышала 25% от того же показателя контрольного варианта. Самое существенное различие между сортами наблюдалось при 100 мМ NaCl, разница между сортами Донской (минимальное ингибирование роста корня проростка) и Лера (максимальное ингибирование) достигла 20%. При более высоких концентрациях NaCl заметно усилилось торможение роста корня проростка, но разница между сортами снизилась до 11—8%.

Для обобщенной оценки устойчивости проростков изученных сортов горчицы к засолению применили балловую систему, присваивая наименьший балл наименьшему негативному эффекту соли (т.е. наибольшему абсолютному значению того или иного показателя). Суммарные данные по действию испытанных концентраций NaCl на всхожесть и рост корня проростков 4-х изученных сортов представлены на рис. 1. Наиболее сильно токсическое действие соли проявилось на проростках сорта Лера, у которых сумма негативных баллов достигла

максимального значения (21). Наибольшей устойчивостью отличился сорт Славянка (сумма баллов 10); сорта Скороспелка и Донской заняли промежуточное положение (сумма баллов 13 и 16 соответственно).

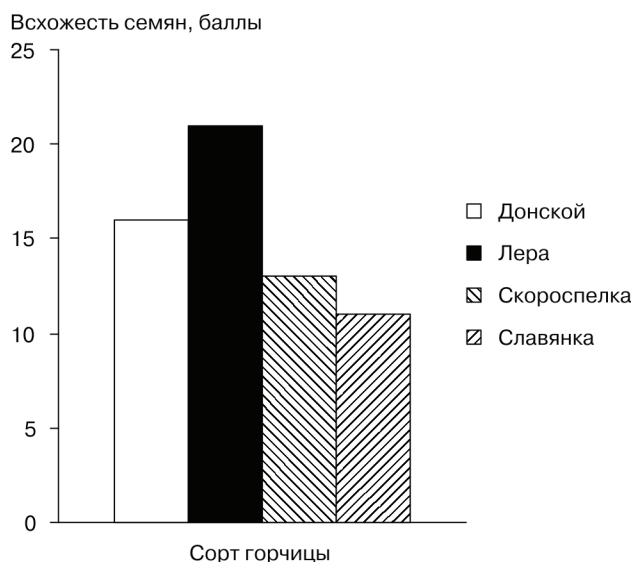


Рис. 1. Обобщенный показатель токсического действия засоления на проростки горчицы, баллы

Таким образом, на этапе прорастания, судя по действию засоления на всхожесть семян и рост корней, наименее устойчивым сортом оказался сорт Лера, наиболее устойчивым сортом можно считать сорт Славянка.

Дальнейшая работа была проведена на молодых растениях горчицы, выращиваемых в водной культуре.

Опыты с растениями трех сортов — Лера, Скороспелка и Славянка — начинали по достижении растениями возраста 4-х недель и формировании листьев 3—4 ярусов. К этому времени надземная масса растений превышала массу корня примерно в 6,5 раз. Действие засоления — 100 и 150 мМ NaCl — продолжалось в течение 20 суток.

По истечении 20 суток проводили оценку свежей биомассы листьев и корней растений горчицы (рис. 2, А, В). Засоление заметно ингибирует накопление биомассы растениями [10]. По ключевому показателю — биомассе листьев — наилучшие результаты показал сорт Скороспелка: при росте на 100 мМ NaCl накопление биомассы снизилось всего на 24,1%, на 150 мМ — на 33,2%. Сорт Славянка уступал ему около 10% на каждой концентрации (разница недостоверна). У растений этих двух сортов — Скороспелки и Славянки — не было обнаружено достоверного различия по действию засоления на биомассу корней, хотя при высокой концентрации соли биомасса корней снизилась почти наполовину (рис. 2, В). Значительно сильнее проявилось негативное действие засоления на растения сорта Лера. При концентрации NaCl 100 мМ масса листьев растений этого сорта снизилась на 40%, масса корней — более чем на 50% (рис. 2, А, В), а при 150 мМ NaCl растения этого сорта погибли на 17-й день опыта.

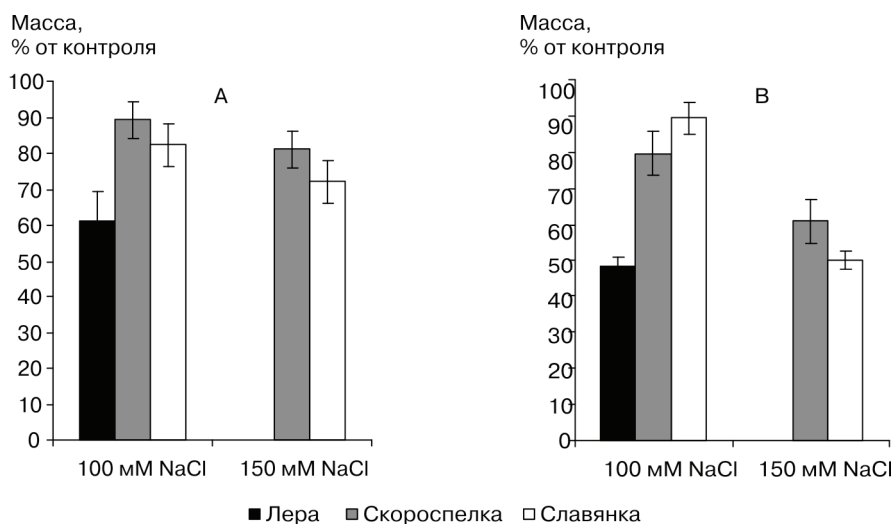


Рис. 2. Влияние засоления на биомассу листьев (А) и корней (В) молодых растений горчицы, % от контроля

Повышение содержания солей в почве либо питательной среде приводит к повышению осмотического давления, что эквивалентно снижению водного потенциала прикорневой среды, вызывая торможение поступления воды в растение.

Одним из важнейших механизмов адаптации к засолению является активация поступления в растение неорганических ионов. Поглощение клетками ионов и их накопление — важный способ повышения тургорного давления клетки и выравнивания осмотического давления (потенциала) в клетках растения и среде. Однако переизбыток ионов может стать токсичным для клетки.

Таким образом, содержание неорганических ионов в растении — важный показатель состояния растения, который наряду с другими фактами помогает оценить степень устойчивости растительного организма к засолению. Для рода *Brassica* было показано различное накопление Na^+ и Cl^- в зависимости от вида [8]. В опыте измеряли содержание ионов Cl^- в листьях растений горчицы, начиная с 10-го дня засоления.

Среди контрольных вариантов существенных сортовых различий по содержанию Cl^- обнаружено не было, концентрация хлорида в листьях растений горчицы составляла в начале опыта 6,3—9 мкмол/г свежей массы и повышалась в ходе эксперимента до 10—15 мкмол/г (табл. 3). При внесении соли в питательный раствор в растениях начиналось интенсивное накопление Cl^- . На 10-е сутки засоления самая высокая концентрация ионов хлора была обнаружена в листьях растений сорта Лера — она достигала 181,3 мкмол/г свежей массы при концентрации 150 мМ.

Это означает, что превышение данных собственного контроля у растений сорта Лера было почти 20-кратным, тогда как у растений сортов Скорospelка и Славянка оно составило на 10-й день опыта всего 13 раз. Иными словами, сорт Лера превосходил по этому показателю растения остальных сортов в 1,5 раза.

Через пять суток содержание хлорида у растений сорта Лера упало вдвое, а еще через два дня растения погибли. По-видимому, эти данные характеризуют сорт Лера как неспособный к регуляции поступления хлорида в растения. Напротив, по сравнению с другими сортами сорт Скороспелка отличался слабовыраженной концентрационной зависимостью: достоверная разница в накоплении хлорида между концентрациями 100 и 150 мМ у этого сорта отсутствовала.

Сорт Славянка, хоть и содержал на 10-е сутки при концентрации 100 мМ в 3 раза меньше хлорида, в конце опыта превышал по содержанию хлорида сорт Скороспелка в 1,2 раза, а при 150 мМ — в 1,4 раза. Таким образом, сорта Славянка и Скороспелка оказались лучше адаптированными к регуляции поступления ионов хлора в клетки листьев по сравнению с сортом Лера.

Таблица 3

**Динамика накопления ионов хлора
в листьях растений горчицы, мкмоль/г свежей массы**

Сорт	NaCl, мМ	Время воздействия, сутки		
		10	15	20
Лера	0	9,0 ± 3,2	11,0 ± 9,3	10,0 ± 5,4
	100	67,5 ± 8,1	80,0 ± 12,2	87,5 ± 7,8
	150	181,3 ± 11,6	92,5 ± 8,0	—
Скороспелка	0	6,3 ± 3,4	10,0 ± 2,2	13,8 ± 2,7
	100	73,8 ± 7,1	65,0 ± 4,3	100,0 ± 8,3
	150	85,0 ± 4,2	98,8 ± 11,4	106,3 ± 5,4
Славянка	0	8,0 ± 1,6	15,0 ± 3,3	10,0 ± 2,2
	100	25,0 ± 4,5	83,8 ± 6,1	118,8 ± 9,4
	150	105,0 ± 11,0	122,5 ± 10,5	147,5 ± 11,1

В связи с такой интенсивной аккумуляцией хлорида в листьях представлялось важным оценить в них уровень совместимых (органических) осмолитов, из числа которых в растениях горчицы неоднократно обнаруживали пролин, играющий большую роль в стресс-адаптации растений [5].

Для оценки устойчивости растений к условиям засоления важно было изучить и соотнести накопление свободного пролина в листьях растений горчицы с поступлением в них ионов хлора.

В течение опыта содержание пролина в листьях растений контрольного варианта находилось в пределах 0,90—2,63 мкмоль/г свежей массы, не обнаруживая существенных сортовых различий и не изменяясь достоверно в ходе опыта (рис. 3, А, В, С).

В ответ на засоление происходило быстрое накопление свободного пролина в листьях растений всех сортов горчицы, и уже на 5 сутки его содержание превышало исходные значения от 2 до 8 раз.

Наибольшей способностью к накоплению пролина обладал сорт Лера. В листьях растений этого сорта при концентрации NaCl 150 мМ на 5-е сутки пролина содержалось в 8 раз больше исходного значения, на 10-е сутки — увеличилось еще в 1,8 раза.

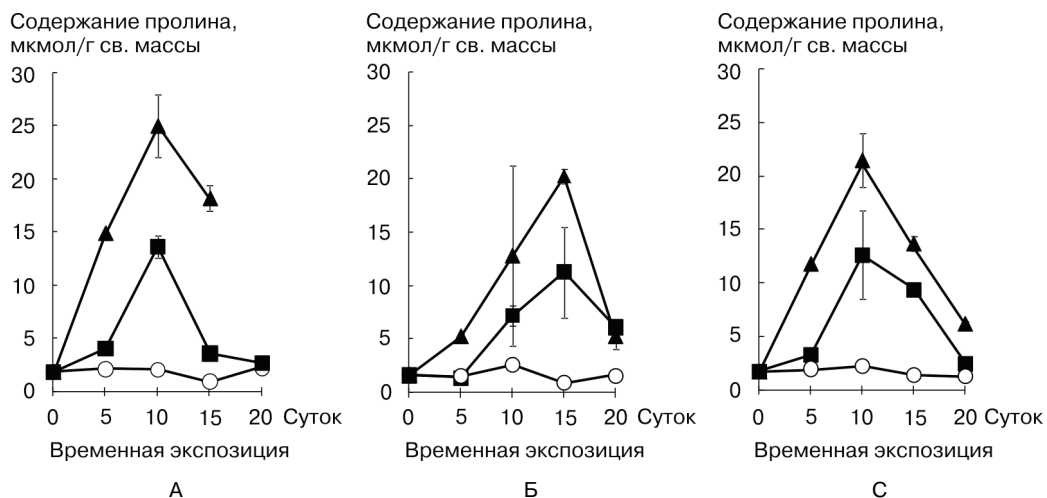


Рис. 3. Содержание пролина в листьях растений горчицы сортов Лера (А), Славянка, (В), Скорospelка (С)
(○—0 мМ NaCl, ■—100 мМ NaCl, ▲—150 мМ NaCl)

Это привело к тому, что максимальная концентрация пролина у растений сорта Лера — 25 мкмол/г свежей массы тканей листьев — оказалась выше, чем у растений других сортов, в 1,2 и в 1,16 раз (для сортов Славянка и Скорospelка соответственно).

При дальнейшем воздействии NaCl содержание пролина в листьях растений всех изученных сортов горчицы стало снижаться и к концу опыта (на 20-е сутки) резко упало.

При 100 мМ NaCl у растений сортов Лера и Скорospelка содержание пролина снизилось соответственно в 5 и в 1,8 раза от максимальной величины, сохраняя лишь небольшое превышение над контрольными вариантами (в 1,2 и 1,7 раза соответственно). В отличие от этих сортов, у растений сорта Славянка понижение содержания пролина началось позже и было менее выраженным, превосходя в конце опыта уровень контрольного варианта в 4 раза. При 150 мМ NaCl растения сорта Лера погибли, а разница в содержании пролина между сортами Славянка и Скорospelка нивелировалась.

Достоверность сильного, многократного снижения содержания пролина в условиях засоления была регулярно подтверждена на растениях горчицы, постоянно, без исключений повторяясь от опыта к опыту при длительных воздействиях 100—150 мМ NaCl.

Среди самых простых причин падения содержания пролина в листьях растений горчицы можно было предполагать его передвижение из листьев в корневую систему растений. Однако это представлялось крайне маловероятным, учитывая, что, как уже было указано ранее, надземная биомасса растений на 20-й день опыта превосходила корневую массу в 6,5 раз. Также и прямые измерения содержания пролина в отдельных органах растений горчицы (данные не приведены) исключили такую возможность.

В качестве другой возможности регуляции уровня пролина могла бы выступать активность фермента, выполняющего ключевую функцию в его деградации в растениях — пролиндегидрогеназы (ПДГ) [11].

Измерение активности фермента ПДГ (рис. 4, А, В, С) в листьях растений изученных сортов горчицы, выращенных в отсутствие засоления, установило довольно высокий конститутивный уровень активности ПДГ, но не выявило существенных сортовых различий и не показало значительных изменений в ходе опыта. Колебания активности ПДГ укладывались в диапазон 4—6 нмол/мин. · г свежей массы листьев контрольного варианта.

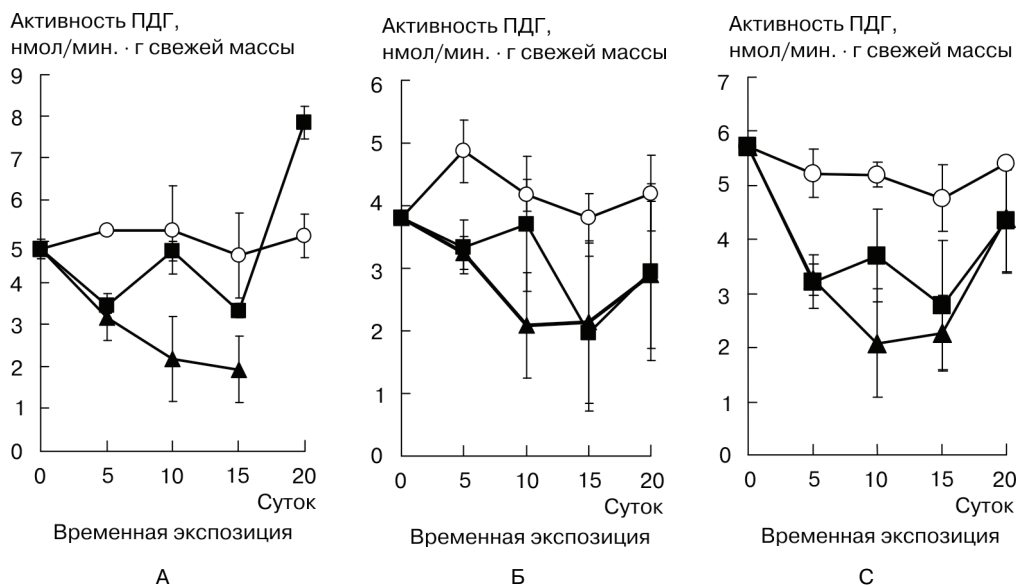


Рис. 4. Влияние засоления на активность ПДГ в листьях растений горчицы сортов Лера (А), Славянка, (В), Скороспелка (С):

(○—0 мМ NaCl, ■—100 мМ NaCl, ▲—150 мМ NaCl)

При засолении менее всего подвергалась изменениям активность ПДГ в листьях растений сорта Славянка, снижаясь до 58% от контроля при 150 мМ NaCl на 10-й день воздействия и поднимаясь почти до 80% в конце опыта.

Сходная динамика была характерна для сорта Скороспелка, лишь падение активности было более глубоким (до 38—41% от контроля), сопровождаемое, как и у сорта Славянка, подъемом активности на 20-й день эксперимента.

Сильное отличие сорта Лера касалось главным образом именно завершающего периода опыта, когда у растений этого сорта в условиях засоления произошел очень резкий подъем активности ПДГ — до 7,84 нмол/мин. · г свежей массы листьев при 100 мМ NaCl в среде (рис. 4, А), что в 1,53 раза превысило уровень активности растений контрольного варианта.

Сопоставление данных по содержанию пролина и активности ключевого фермента его катаболизма показало определенную взаимосвязь между этими параметрами.

Характер зависимости между концентрацией пролина и активностью ПДГ свидетельствует в пользу представления о том, что активность ПДГ является одним из существенных механизмов регуляции содержания пролина в тканях растений. Однако это не исключает участия других систем регуляции, таких, например, как ферменты синтеза пролина, а при определенных условиях решающую роль может играть также и органное перераспределение (транслокация) и клеточная локализация пролина в растении. Последнее обстоятельство нужно особо учитывать, поскольку очевидно, что функциональная роль пролина может быть обусловлена не столько его абсолютным уровнем в ткани, но в большей степени его клеточной компартментацией.

Важная информация содержится в представленных данных, характеризующих зависимость накопления пролина при засолении от уровня хлорида, поступившего в листья растений горчицы. Сравнение динамики поступления хлорида и аккумуляции в листьях пролина выявило довольно сложный характер связи между этими процессами, а также позволило установить существенные сортовые различия в ответных реакциях растений на засоление (что особенно четко просматривается при высоком, сильно повреждающем засолении — 150 мМ NaCl).

Оказалось, что на 10-й день засоления концентрация аккумулярованного в листьях пролина хорошо аппроксимировалась прямо пропорциональной зависимостью от концентрации поступившего в них хлорида.

Однако дальнейшее, в основном замедленное поступление хлорида в листья лишь у растений сорта Славянка сопровождалось дополнительным накоплением пролина. Максимальная концентрация пролина в листьях растений горчицы составляла 21—25 мкмоль/г свежей массы листьев, после чего происходило резкое снижение его содержания, несмотря на продолжающееся повышение концентрации хлорида.

Такое несоответствие между динамиками содержания хлорида и пролина, как и низкий абсолютный уровень пролина, ставит под вопрос роль пролина в качестве совместимого осмолита при засолении.

Анализ литературных данных показал, что концентрации пролина, представленные в большинстве работ, как и данные настоящего исследования, слишком малы для оказания существенного осмотического эффекта [11]. Поэтому регулярно наблюдаемой аккумуляции пролина при стрессах все чаще отводят роль не столько осмолита, но, скорее, осмопротектора, защищающего макромолекулы от осмотического стресса в условиях засухи, засоления, неблагоприятной температуры или др. (см., например, [12]). При этом высокие концентрации самого пролина могут оказывать токсическое действие на растение, что неоднократно обнаруживали в опытах с экзогенным пролином [13].

Представленные данные позволяют нам высказать предположение, что пролин в условиях проведенных опытов скорее функционировал не как совместимый осмолит или осмопротектор, но как низкомолекулярный шаперон (т.е. отвечал не на осмотический потенциал, а на концентрацию токсических веществ в цитозоле).

Вместе с тем кажется весьма вероятным представление о том, что имеется некоторый пороговый уровень пролина, превышение которого являлся сигналом для активации ПДГ, деградирующей избыток пролина, устраняя риск его накопления до токсических концентраций для растения. Можно полагать, что в этом заключалась одна из причин низкой устойчивости растений сорта Лера.

По-видимому, недостаточный контроль за скоростью поступления хлорида в клетки листьев индуцировал слишком быстрый синтез пролина, результатом чего являлось достижение и даже превышение им токсического уровня. При умеренном засолении (100 мМ NaCl) чрезвычайно сильная активация ПДГ у растений этого сорта, видимо, успевала защитить растение, но при 150 мМ защита не срабатывала, что приводило к гибели растений.

Таким образом, в проведенном исследовании было установлено, что растения горчицы сарептской (*Brassica juncea Czern.*) способны к росту при умеренном уровне NaCl в среде, не превышающем 100—150 мМ.

Как при прорастании семян, так и в период роста молодых растений горчицы сорта Скороспелка и Славянка показали относительно большую устойчивость при воздействии засоления в сравнении с сортом Лера.

Были изучены некоторые механизмы адаптации растений к воздействию NaCl и обнаружена непрямая взаимосвязь между поступлением ионов хлора в листья растений и накоплением них пролина. Установлен факт сильного, многократного падения содержания пролина после 10—15 суток воздействия NaCl, что напрямую коррелировало с повышением активности фермента пролиндегидрогеназы.

Приведенные материалы, на наш взгляд, соответствуют представлению о функциональной роли пролина в качестве низкомолекулярного органического соединения, обладающего функциями шаперона и осуществляющего защиту макромолекул от избыточных концентраций неорганических ионов в цитозоле, но оказывающего токсическое действие при превышении порогового уровня в клетке. Мы полагаем, что с этими причинами связаны в существенной степени различия в устойчивости изученных нами сортов горчицы.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Картамышев В.Г. Генетика, селекция и семеноводство масличных культур. — Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2008.
- [2] Генкель П.А. Солеустойчивость растений и пути ее направленного повышения (Тимирязевские чтения XII, 4 июня 1950 г.). — М.: Изд-во Акад. наук СССР, 1954.
- [3] Flowers T.J. Improving Crop Salt Tolerance // J. Exp. Botany. — 2004. — V. 55. — P. 307—319.
- [4] Kumar G., Purty R.S., Sharma M.P., Singla-Pareek S.L., Pareek A. Physiological responses among Brassica species under salinity stress show strong correlation with transcript abundance for SOS pathway-related genes // Journal of Plant Physiology. — 2009. — V. 166. — P. 507—520.
- [5] Кузнецов Вл.В., Шевякова Н.И. Проллин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиол. растений. — 1999. — № 46. — С. 321—336.
- [6] Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant and Soil. — 1973. — V. 39. — P. 205—207.

- [7] *Mattioni C., Lacerenza N.G., Troccoli A., De Leonardi A.M., Di Fonzo N.* Water and salt stress-induced alterations in proline metabolism of *Triticum durum* L. seedlings // *Physiol. Plant.* — 1997. — V. 101. — P. 787—792.
- [8] *Ashraf M., McNeilly T., Nazir M.* Comparative salt tolerance of amphidiploid and diploid Brassica species // *Plant Sci.* — 2001. — V. 160. — P. 683—689.
- [9] *Armengaud P., Thiery L., Buhot N., Grenier-De March G., Savoure A.* Transcriptional regulation of proline biosynthesis in *Medicago truncatula* reveals developmental and environmental specific features // *Physiol. Plant.* — 2004. — V. 120 — P. 442—450.
- [10] *Kumar D.* Salt tolerance in oilseed brassicas — present status and future prospects // *Plant Breed. Abst.* — 1995. — V. 65. — P. 1438—1447.
- [11] *Kavi Kishor P.B., Sangam S., Amrutha R.N., Srilakshmi P., Naidu K.R., Rao K.R.S.S., Sreenath Rao, Reddy K.J., Theriappan P., Sreenivasulu N.* Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants. Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance // *Current Sci.* — 2005. — V. 88 (3). — P. 424—436.
- [12] *Gagneul D., Ainouche A., Duhazé C., Lugan R., Larher F.R., Bouchereau A.* A Re-assessment of the Function of the So-Called Compatible Solutes in the Halophytic Plumbaginaceae *Limonium latifolium* // *Plant Physiol.* — 2007. — Vol. 144 (3) — P. 1598—1611.
- [13] *Hellmann H., Funck D., Rentsch D., Frommer B.W.* Hypersensitivity of an *Arabidopsis* sugar signaling mutant toward exogenous proline application // *Plant Physiol.* — 2000. — Vol. 122. — P. 357—368.

COMPARATIVE ANALYSIS OF PHYSIOLOGICAL SALT TOLERANCE MECHANISMS FOR SOME INDIAN MUSTARD VARIETIES

A.L. Grinin¹, I.A. Korshunov¹,
V.P. Kholodova¹, V.I.V. Kuznetsov^{1,2}

¹Timirjazev Institute of Plant Physiology
Russian Academy of Science
Botanicheskaya str., 35, Moscow, Russia, 127276

²Department of botany, plant physiology,
plant pathology and agrobiotechnology
Russian People's Friendship University
Miklukho-Maklaya str., 8/2, Moscow, Russia, 117198

The comparison and assessment have been performed to characterize salt tolerance of some varieties of Indian mustard (*Brassica juncea Czern.*) seedlings and young plants. Some mechanisms of NaCl tolerance have been studied and the indirect relationship between accumulation of Cl ions in leaves and their proline content have been established. After 10—15 days of mustard plant salinisation, proline content decreased and the correlation between proline and proline dehydrogenase activity has been proved.

Key words: Indian mustard (*Brassica juncea Czern.*), proline, proline dehydrogenase.