

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

ВЛИЯНИЕ СОЛЕВОГО СТРЕССА НА РОСТ И НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ РОДА *NIGELLA*

Д.О. Гогуз¹, В.П. Холодова²,
Вл.В. Кузнецов²

¹Кафедра ботаники, физиологии растений и агробиотехнологии
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия, 117198

²Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия, 127276

Статья посвящена сравнительному анализу данных по действию засоления, вызванного внесением NaCl, на растения двух видов рода *Nigella* (чернушка) — *N. damascena* и *N. sativa*.

Ключевые слова: *Nigella*, *Nigella damascena*, *Nigella sativa*, хлоридное засоление, ростовые показатели, пролин, фотосинтетические пигменты.

Растения рода чернушка (*Nigella L.*) — однолетние травянистые растения семейства лютиковых (*Ranunculaceae*), произрастают в Западной Европе, Северной и Западной Африке, Юго-Восточной и Западной Азии. Культивируются в Европе, Малой Азии и Индии. В некоторых странах СНГ выращиваются как декоративные растения, изредка дичают [1].

Самыми распространенными видами являются чернушка дамасская (*N. damascena L.*) и чернушка посевная (*N. sativa L.*). Эти растения, накапливающие в семенах до 40% жирных масел, эфирные масла, витамины и ферменты, используются как пищевые и лекарственные, а также широко применяются в дизайне садов [1; 2]. Они могут произрастать в суровых почвенно-климатических условиях, по-видимому, благодаря специализированным механизмам устойчивости к неблагоприятным факторам среды, в том числе и к условиям солевого стресса [3].

По современным представлениям, негативное воздействие засоления почв на растение связывается как с высоким осмотическим давлением почвенного раствора, так и с токсичностью солей. В таких условиях ткани растений накапливают токсичные промежуточные продукты метаболизма: диамины, путресцин и кадаверин. При солевом стрессе в растениях подавляется образование белков

и усиливается распад уже сформированных белковых комплексов. Снижение синтеза белка проявляется в заметном уменьшении скорости роста и темпов развития растений, нарушении метаболических процессов. Некоторые аминокислоты, такие как пролин, обуславливают эффективность действия адаптационного механизма при засолении [3; 4].

Цель настоящего исследования заключалась в сравнительном изучении действия солевого стресса на рост, содержание фотосинтетических пигментов и накопление пролина в листьях растений двух видов чернушки.

Объекты и методы исследования. Выращивание растений осуществляли в оранжерее и климатической камере Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва. Семена *Nigella sativa* L. (чернушка посевная) были получены из Египта, семена *Nigella damascena* L. (чернушка дамасская) — из Сирии.

Семена предварительно помещали в слабый раствор $KMnO_4$ на 30 мин., затем проращивали в перлите в течение 15 дней, после чего молодые растения аккуратно высаживали в сосуды с почвой по 8 растений на сосуд. Использовали сосуды диаметром 20 см высотой 30 см на 4 кг воздушно-сухой почвы. Были применены 3 уровня засоления — 2 г/кг почвы, 3 г/кг почвы и 4 г/кг почвы $NaCl$ на сосуд. Вносили $NaCl$ с водой, в опытах было по 2 сосуда на вариант.

В ходе эксперимента оценивали влияние засоления на выживание растений, высоту побега, биомассу надземной части растений, содержание фотосинтетических пигментов и пролина. Измерения ростовых показателей (высоту побега, биомассу надземной части растений) осуществляли линейкой в 10-й, 20-й и 30-й день засоления.

Фиксацию растительного материала проводили на 30-й и 45-й день. Образцы листьев (листья среднего яруса, 100 мг) контрольных и опытных растений фиксировали жидким азотом и хранили при $-70\text{ }^{\circ}C$ до измерения пролина.

Содержание пигментов определяли в день отбора листьев. Образцы листьев (100 мг) контрольных и опытных растений помещали в охлажденную фарфоровую ступку, фиксировали с 1,5 мл охлажденного 96%-го этилового спирта и растирали (предварительно добавив кварцевого песка) [5].

Содержание хлорофилла а и b, каротиноидов и ксантофиллов измеряли в спиртовом экстракте по Шлыку (1971) [5], используя спектрофотометр Genesis 20 (фирма «ThermoSpectronic», США).

Для расчета содержания пигментов использовали следующие формулы:

$$C_{\text{хл. а}} = 13,70 \cdot D_{665} - 5,76 \cdot D_{649},$$

$$C_{\text{хл. b}} = 25,80 \cdot D_{649} - 7,60 \cdot D_{665},$$

$$C_{\text{кр}} = D_{450}/236,$$

$$C_{\text{кс}} = D_{445}/215,$$

где C — концентрация соответствующего пигмента; D_{665} и D_{649} — поглощение при длинах волн 665 и 649 нм. Содержание пигментов после расчета по формулам переводили в мг/г сырой массы листа.

Содержание пролина определяли с помощью нингидринового реактива по методу Bates et al. (1973) [6]. Расчет содержания пролина проводили по формуле:

$$C = E \cdot k \cdot V/m,$$

где C — концентрация пролина, мкмоль/г сырой массы; E — оптическая плотность; k — коэффициент, рассчитанный по калибровочной кривой (217,49); V — объем экстракта, мл; m — масса навески, г.

Результаты исследований. Опыт по воздействию засоления на растения видов чернушки *N. sativa* и *N. damascena* продолжался 43 дня.

В качестве первого показателя оценивали количество растений двух изучаемых видов, сохранившихся как в контрольных условиях роста, так и при воздействии NaCl в использованных концентрациях в течение 30-дневного периода наблюдений.

Было установлено (рис. 1), что в течение опыта сохранились практически все растения контрольного варианта и *N. damascena*, и *N. sativa* (93,7% растений *N. damascene*, 87,5% растений *N. sativa*). Но на 30-й день воздействия NaCl в низкой концентрации (2 г NaCl/кг почвы) выжило 60,0% растений *N. damascena* и 57,14% растений *N. sativa*. При умеренной (3 г NaCl/кг почвы) концентрации NaCl гибель была более значительной, в результате сохранилось 46,6% растений *N. damascena* и 35,71 % растений *N. sativa*. При внесении 4 г NaCl/кг почвы уже на 20-й день засоления погибли все растения как *N. sativa*, так и *N. damascena*, причем динамика гибели растений обоих видов была практически одинаковой.

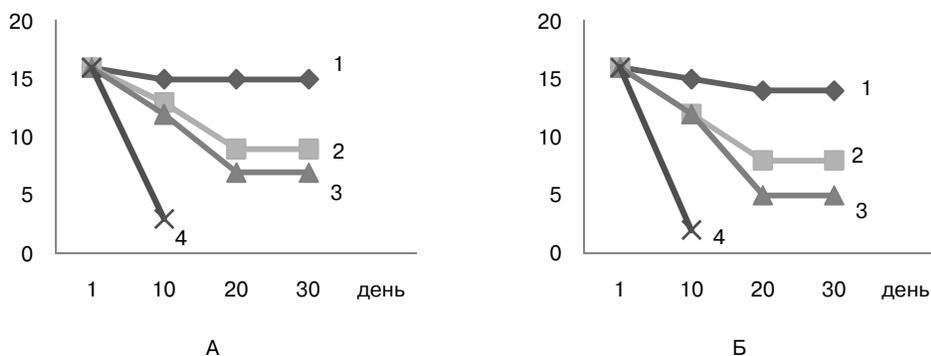


Рис. 1. Динамика выживания растений *N. damascena* (А) и *N. sativa* (Б), шт.:

1 — контроль, 2 — NaCl 2 г/кг, 3 — NaCl 3 г/кг, 4 — NaCl 4 г/кг

Изучение динамики роста побега показало, что растения *N. damascena* контрольного варианта несколько превосходили в росте растения *N. sativa* (рис. 2). Растения *N. damascene* к 30-у дню были немного крупнее (8,6 см), чем *N. sativa* (8,0 см). Динамика роста побега при засолении для обоих видов растений была практически одинаковой. На 30-й день воздействия NaCl в низкой концентрации (2 г/кг почвы) высота побега *N. damascena* составляла 6,0 см, у растений *N. sativa* — 5,8 см. При умеренной концентрации NaCl (3 г/кг почвы) побег растений *N. damascena* достиг высоты 4,8 см, у растений *N. sativa* — 4,5 см, что составило 55,81% и 52,32% от значений контрольного варианта тех же видов *Nigella*.

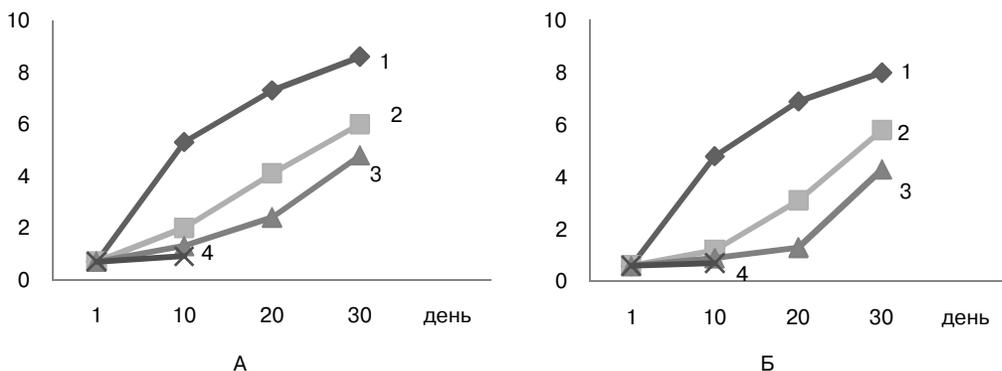


Рис. 2. Динамика высоты стебля растений *N. damascena* (А) и *N. sativa* (Б) (см):
1 — контроль, 2 — NaCl 2 г/кг, 3 — NaCl 3 г/кг, 4 — NaCl 4 г/кг

Дополнительно на 30-й и на 45-й день были проведены измерения высоты стебля (от семядолей до начала ветвления) и биомассы надземной части растений. У растений контрольного варианта *N. damascena* высота стебля и свежая масса надземных органов были немного больше, чем у *N. sativa* (табл. 1 и 2). Влияние засоления проявилось в значительном торможении роста и накопления биомассы, причем достоверных различий между видами не было зарегистрировано.

Таблица 1

Влияние засоления на высоту стебля и свежую биомассу побега растений *N. damascena* и *N. sativa* на 30-й день воздействия NaCl

Вид	<i>N. damascena</i>			<i>N. sativa</i>		
	Контроль	2 г NaCl/кг	3 г NaCl/кг	Контроль	2 г NaCl/кг	3 г NaCl/кг
Высота стебля, см	5,5 ± 1,00	3,8 ± 0,90	2,5 ± 0,28	4,8 ± 0,46	3,1 ± 0,1	2,3 ± 0,14
Свежая биомасса побега, мг	190 ± 6,08	145 ± 9,12	80 ± 2,82	176 ± 6,35	95 ± 5,00	75 ± 7,00

Таблица 2

Влияние засоления на высоту стебля и свежую биомассу побега растений *N. damascena* и *N. sativa* на 45-й день воздействия NaCl

Вид	<i>N. damascena</i>			<i>N. sativa</i>		
	Контроль	2 г NaCl/кг	3 г NaCl/кг	Контроль	2 г NaCl/кг	3 г NaCl/кг
Высота стебля, см	7,8 ± 0,78	4,7 ± 0,60	3,7 ± 0,16	6,9 ± 0,30	4,4 ± 0,6	3,6 ± 0,1
Свежая биомасса побега, мг	198 ± 3,03	151 ± 4,7	92 ± 1,80	182 ± 4,60	98 ± 2,00	80 ± 4,00

На 30-й день засоления было измерено содержание пролина в листьях растений двух видов *Nigella*; по завершении опыта, на 45-й день воздействия NaCl также был определен уровень пролина в контрольных и опытных растениях (рис. 3).

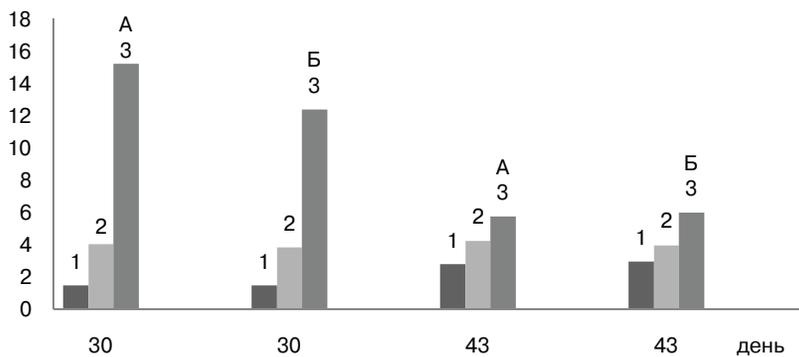


Рис. 3. Влияние засоления на содержание пролина в листьях растений *N. damascena* (А) и *N. sativa* (Б) (мкмоль/г свежей массы листа):
1 — контроль, 2 — NaCl 2 г/кг, 3 — NaCl 3 г/кг

Содержание пролина в листьях растений контрольного варианта на 30-й и 45-й день опыта для двух изучаемых видов *Nigella* представлено на рис. 3. На 30-й день опыта содержание пролина в листьях составило 1,45 мкмоль/г свежей массы листа у *N. sativa* и 1,47 мкмоль/г свежей массы листа у *N. damascena*. На 45-й день опыта концентрация пролина в листьях растений контрольного варианта составила 2,93 мкмоль/г свежей массы у *N. sativa* и 2,78 мкмоль/г свежей массы у *N. damascena*, т.е. увеличилась почти в 2 раза.

Засоление вызвало сильное увеличение содержания пролина в листьях исследованных видов растений (рис. 3). При воздействии NaCl в низкой концентрации (2 г/кг) содержание пролина в листьях растений *N. damascena* увеличилось до 4,04 мкмоль/г, растений *N. sativa* — до 3,83 мкмоль/г свежей массы, что в 4 раза и в 3 раза превысило содержание пролина в растениях контрольного варианта. Соответствующие величины при более сильном засолении (3 г/кг NaCl) составили для *N. damascena* 15,2 мкмоль/г свежей массы и для *N. sativa* 12,38 мкмоль/г свежей массы — данные для контрольных вариантов соответствующих видов были превышены в 15 раз.

На фоне почти двукратного увеличения содержания пролина на 45-й день опыта у растений контрольного варианта неожиданной оказалась реакция на засоление (рис. 3). При использовании NaCl 2 г/кг содержание пролина сохранялось на прежнем уровне (4 мкмоль). При умеренном засолении (3 г NaCl/кг почвы) содержание пролина у *N. damascena* упало до 5,74 мкмоль/г свежей массы, т.е. в 3 раза (с 15,2 мкмоль/г) в сравнении с 30-дневным воздействием. Менее выраженным было снижение у *N. sativa* — до 5,99 мкмоль свежей массы, что соответствовало падению в 2 раза (с 12,38 мкмоль/г). Видимо, такие изменения можно рассматривать как результат произошедшей за время опыта адаптации растений к засолению [7].

При завершении опыта, на 45-й день засоления, было также проведено измерение содержания фотосинтетических пигментов в листьях растений *N. damascena* и *N. sativa* (табл. 3 и 4). В листьях контрольных растений изучаемых видов содержание хлорофилла а и b существенно не различалось, не было разницы и в содержании ксантофиллов, но по уровню каротиноидов растения *N. damascena* значительно превосходили растения *N. sativa*.

Таблица 3

Влияние засоления на содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений *N. damascena* и *N. sativa* (мг/г свежей массы) на 45-й день воздействия NaCl

Вид	<i>N. damascena</i>			<i>N. sativa</i>		
	Контроль	2 г NaCl/кг	3 г NaCl/кг	контроль	2 г NaCl/кг	3 г NaCl/кг
Хлорофилл а	1,406	1,272	1,326	1,453	1,473	1,190
Хлорофилл b	0,933	0,467	0,543	0,924	0,512	0,422
Отношение а/в	1,506	2,723	2,441	1,573	2,877	2,820
Сумма а+в	2,339	1,739	1,869	2,377	1,985	1,612
Каротиноиды	2,24	1,706	0,672	0,786	0,635	0,500
Ксантофиллы	0,056	0,027	0,045	0,050	0,038	0,024

Таблица 4

Влияние засоления на содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений *N. damascena* и *N. sativa* (% к контролю) на 45-й день воздействия NaCl

Вид	<i>N. damascena</i>			<i>N. sativa</i>		
	Контроль	2 г NaCl/кг	3 г NaCl/кг	контроль	2 г NaCl/кг	3 г NaCl/кг
Хлорофилл а	100	90,46	94,31	100	101,37	81,89
Хлорофилл b	100	50,05	58,19	100	55,41	45,67
Сумма а+в	100	74,34	79,90	100	83,50	67,81

В разной степени проявился ингибирующий эффект засоления на содержании изученных фотосинтетических пигментов. Значительно сильнее снизилось содержание хлорофилла b по сравнению с хлорофиллом а, в результате отношение хл а/хл b увеличилось с 1,506 до 2,877, что отражает более сильное защитное действие по отношению к хлорофиллу а. Особенно значительно токсическое действие засоления проявилось в падении содержания каротиноидов у *N. damascena*, но при этом их уровень оставался более высоким, чем у *N. sativa*.

Заключение. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о наличии стойкого ингибирующего действия повышенных концентраций NaCl на выживание (жизнеспособность) и ростовые показатели растений двух видов рода *Nigella*. Установлен летальный уровень засоления — 4 г NaCl/кг почвы: такая концентрация хлористого натрия приводила к полной гибели растений обоих видов уже на 20-й день. При слабом (2 г NaCl/кг почвы) и умеренном (3 г NaCl/кг почвы) засолении сохранялось более 60% и 40% растений соответственно. Засоление сильно снижало рост растений в высоту и накопление биомассы, существенной причиной чего является токсическое действие засоления на фотосинтетические пигменты, особенно при более высокой концентрации соли в среде. Что касается разницы между видами, у растений *N. damascena* наблюдалась заметно лучшая сохранность пигментной системы.

Установлено, что в условиях солевого стресса в листьях растений *Nigella* индуцируется выработка веществ, участвующих в защитных механизмах. Это отчетливо видно на примере пролина, обладающего свойствами химического шаперона и антиоксиданта. В листьях растений содержание пролина достоверно изме-

нялось в зависимости от концентрации стрессора и продолжительности его действия, демонстрируя один из возможных механизмов функционирования защитной системы растений рода *Nigella*. Значительно более высокое содержание пролина в листьях *N. damascena* в ходе адаптационного процесса в сравнении с *N. sativa* свидетельствует о более высокой устойчивости этого вида к засолению. Также и практически по всем остальным измеренным показателям наблюдали некоторое преимущество *N. damascena*.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Крашенинников И.М. Род 514. Чернушка — *Nigella* // Флора СССР. В 30 т. / Гл. ред. акад. В.Л. Комаров. — М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1937. — Т. VII / Ред. тома Б.К. Шишкин. — С. 62—72.
- [2] Горбань А.Т., Горлачева С.С., Кривуненко В.П. Лекарственные растения: вековой опыт изучения и возделывания. — Полтава: Верстка, 2004.
- [3] Кузнецов Вл.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. — М.: Абрис, 2011.
- [4] Радюкина Н.Л., Тоайма В.И.М., Зарипова Н.Р. Участие низкомолекулярных антиоксидантов в кросс-адаптации лекарственных растений к последовательному действию UV-B облучения и засоления // Физиология растений. — 2012. — Т. 59. — № 1. — С. 80—88.
- [5] Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений. — М.: Наука, 1971. — С. 154—171.
- [6] Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant Soil. — 1973. — 39. — P. 205—207.
- [7] Кузнецов Вл.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. — 1999. — 46. — С. 321—336.

EFFECT OF SALT STRESS ON GROWTH AND SOME PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE GENUS NIGELLA

D.O. Goguè¹, V.P. Kholodova², V.I.V. Kuznetsov²

¹Department of botany, plant physiology and agrobiotechnology
Peoples' Friendship University of Russia
Miklukho-Maklaya str., 8/2, Moscow, Russia, 117198

²Timirjazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Science
Botanicheskaya str., 35, Moscow, Russia, 127276

The paper deals with the comparative analysis of data on the effects of salinity caused by the introduction of NaCl, the plants of the two species of *Nigella* — *N. damascena* and *N. sativa*.

Key words: *Nigella*, *Nigella damascena*, *Nigella sativa*, chloride salinization, growth indicators, proline, photosynthetic pigments.

REFERENCES

- [1] *Krashennnikov I.M.* Rod 514. Chernushka — Nigella // Flora SSSR. V 30 t. / Gl. red. akad. V.L. Komarov. — M.-L.: Izd-vo AN SSSR, 1937. — T. VII / Red. toma B.K. Shishkin. — S. 62—72.
- [2] *Gorban' A.T., Gorlacheva S.S., Krivunenko V.P.* Lekarstvennye rastenija: vekovoj opyt izuchenija i vozdeljvanija. — Poltava: Verstka, 2004.
- [3] *Kuznecov Vl.V., Dmitrieva G.A.* Fiziologija rastenij. — M.: Abris, 2011.
- [4] *Radjukina N.L., Toajma V.I.M., Zaripova N.R.* Uchastie nizkomolekuljarnyh antioksidantov v kross-adaptacii lekarstvennyh rastenij k posledovatel'nomu dejstvuju UV-B obluchenija i zasolenija // Fiziologija rastenij. — 2012. — T. 59. — № 1. — S. 80—88.
- [5] *Shlyk A.A.* Opredelenie hlorofillov i karatinoidov v jekstraktah zelenyh list'ev // Biohimicheskie metody v fiziologii rastenij. — M.: Nauka, 1971. — S. 154—171.
- [6] *Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D.* Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant Soil. — 1973. — 39. — P. 205—207.
- [7] *Kuznecov Vl. V., Shevjakova N.I.* Prolin pri stresse: biologicheskaja rol', metabolizm, reguljacija // Fiziologija rastenij. — 1999. — 46. — S. 321—336.