

УДК 581.9:581.524.1

ВПЛИВ РУТИНУ, АСКОРБІНОВОЇ ТА САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН РОСЛИН ПШЕНИЦІ В УМОВАХ ПОСУХИ

Н.П. ДІДИК, Н.В. РОСІЦЬКА, Л.Д. БЕРЕБЕНИЧУК

Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка Національної академії наук України
01014 Київ, вул. Тимірязєвська, 1
e-mail: natasha_didyk@mail.ru

Вивчено вплив обробки насіння пшениці (*Triticum aestivum* L., сорт Дніпрянка) розчинами рутину, аскорбінової та саліцилової кислот різних концентрацій на функціональний стан проростків пшениці за умов посухи. Встановлено позитивний ефект, що залежав від концентрації та типу діючої речовини, а саме: обробка поліпшувала схожість насіння, показники росту (площа поверхні листків, маса надземних частин і коренів) та водного режиму (обводненість, водний дефіцит, інтенсивність транспірації листків) у проростків пшениці. Отримані результати підтвердили перспективність застосування аскорбінової й саліцилової кислот для індукції посухостійкості рослин. Індукцію стійкості рослин до посухи після обробки насіння рутином виявлено вперше.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., фізіологічно активні речовини, адаптація, посуха.

Дефіцит вологи є однією з основних проблем вирощування сільськогосподарської продукції у світі загалом і в Україні зокрема. Зменшення кількості опадів взимку, збільшення частоти посух навесні призводять до зростання ризику загибелі сільськогосподарських рослин уже на ранніх стадіях онтогенезу. Згідно з останніми даними, збитки українських аграріїв від посухи в окремі роки перевищують 20 млрд грн/рік [4, 6].

Відомо два шляхи зменшення сільськогосподарських втрат унаслідок посухи: 1) виведення стійких сортів культурних рослин; 2) обробка рослин речовинами, що підвищують їх стійкість до посухи [13, 16]. Встановлено, що деякі фітогормони, вітаміни, поліаміни, фенольні сполуки, синтетичні сполуки групи триазолів, рослинні екстракти, гумінові кислоти тощо можуть бути індукторами посухостійкості рослин. Особливу увагу привертають аскорбінова, саліцилова кислоти та флавоноїди — природні речовини, що не забруднюють навколишнє середовище і сільськогосподарську продукцію.

Аскорбінова кислота (АК) — природний вітамін і антиоксидант. У рослинній клітині вона непрямо бере участь у процесах фотосинтезу, дихання, водного обміну, мінерального живлення, росту і розвитку [8], а також у захисних реакціях на різні типи біотичного й абіотичного стресу [10]. Екзогенна АК здатна підвищувати стійкість рослин до посухи [8], засоленості [9], низької температури [8], фітотоксичних доз приземного озону [19], фітопатогенних мікроорганізмів [10].

Як ендогенний регулятор фенольної природи саліцилова кислота (СК) впливає на різні фізіологічні процеси: транспірацію, фотосинтез [13], поглинання і транспорт іонів [11], ріст, розвиток рослин [14]. На низці рослинних об'єктів доведено, що екзогенна СК є індуктором стійкості до таких стресових чинників, як посуха [16], висока й низька температури [17], сольовий та осмотичний стрес [16], токсичні метали [15]. Фізіолого-біохімічні процеси, які зумовлюють індуковану АК й СК стійкість рослин до стресових чинників, інтенсивно досліджуються.

Флавоноїди захищають фотосинтетичний апарат клітини від шкідливого впливу УФ-радіації, регулюють ріст і розвиток, мають антиоксидантні й антимутагенні властивості, відіграють роль сигнальних молекул у взаємодіях рослин із мікроорганізмами, комахами [3]. Вплив екзогенних флавоноїдів на стійкість рослин до посухи досі не вивчено.

Метою наших досліджень було вивчення впливу обробки насіння пшениці розчинами аскорбінової, саліцилової кислот і рутину (Ру) різної концентрації на індукцію посухостійкості у проростків.

Методика

Насіння пшениці (*Triticum aestivum* L., сорт Дніпрянка) замочували у водних розчинах фізіологічно активних речовин (АК, СК, Ру) або у дистильованій воді (контроль) протягом 3 год. Досліджено такі концентрації діючих речовин: Ру — 10^{-4} , $3 \cdot 10^{-5}$, 10^{-5} , $3 \cdot 10^{-6}$ моль/л; АК і СК — 10^{-3} , $3 \cdot 10^{-4}$, 10^{-4} , $3 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Після цього насіння висівали у вегетаційні посудини з піщаним субстратом (поживний розчин Гельригеля). Рослини вирощували в лабораторних умовах за температури 22–24 °С протягом 3 тижнів за двох рівнів вологості ґрунту: оптимального — 55–60 % повної вологості (ПВ) і посушливого — 20–25 % ПВ. Відповідно застосовано два контрольні варіанти: контроль 0 — насіння замочували у дистильованій воді й висівали у субстрат з оптимальним зволоженням; контроль 1 — насіння замочували у дистильованій воді й висівали у субстрат з низьким рівнем зволоження. Вологість ґрунту періодично визначали гравіметричним методом і підтримували на заданому рівні до кінця експерименту [1]. Схожість насіння у відсотках рахували на 3-тю, 4- і 5-ту доби експерименту. Наприкінці досліду визначали показники росту (площу поверхні листків, маси сухої речовини надземних частин і коренів), водного режиму (інтенсивність транспірації, вміст води, водний дефіцит), вміст проліну в листках. Інтенсивність транспірації визначали методом реєстрування змін маси зрізаних листків за короткі проміжки часу за Івановим [5], вміст води і водний дефіцит — гравіметричним методом [2]. Пролін екстрагували зі свіжозібраних листків 3 %-м розчином сульфосаліцилової кислоти, його вміст установлювали спектрофотометрично із проведенням якісної реакції з нінгідринним реактивом [7]. Експериментальні дані оброблені статистично із визначенням середньоарифметичного й похибки середньоарифметичного.

Результати та обговорення

За умов посухи значно погіршувались показники проростання насіння, приросту маси, водного режиму проростків пшениці, підвищувався вміст проліну в листках рослин порівняно з рослинами, вирощуваними за оптимального зволоження у контролі 0 (табл. 1, 2). За обробки насіння пшениці фізіологічно активними речовинами істотно поліпшувались його схожість та адаптивні реакції проростків в умовах посухи.

У разі обробки насіння пшениці розчином Ру кількість пророслого насіння в умовах посухи вірогідно не відрізнялась від контролю 0. Стимулювальний ефект Ру не залежав від його концентрації в дослідженому діапазоні ($3 \cdot 10^{-6}$ — 10^{-4} моль/л), що свідчить про можливий сигнальний характер дії Ру на проростання насіння пшениці. АК й СК в умовах посухи стимулювали проростання насіння пшениці меншою мірою, їх ефект залежав від концентрації: максимальну схожість насіння зафіксовано за концентрації АК — 10^{-4} , СК — $3 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Стимулювальний ефект АК, СК, Ру на проростання насіння описано для різних видів рослин [1], проте фізіологічні механізми їх дії досліджені недостатньо. Очевидно, певну роль відіграють антиоксидантні властивості цих сполук та їх здатність детоксикувати вільні радикали, що утворюються в ході розвитку стрес-реакції. Крім того, встановлено, що обробка насіння АК стимулює його схожість унаслідок підвищення інтенсивності дихання, α -амілазної активності, збільшення вмісту водорозчинних вуглеводів і білків, а також ефективності ремобілізації поживних речовин з ендосперму [1].

За умов посухи значно пригнічувався приріст маси проростків пшениці (див. табл. 1). Загалом співвідношення мас надземної частини і ко-

ТАБЛИЦЯ 1. Вплив обробки насіння пшениці фізіологічно активними речовинами на схожість насіння (5-та доба) і морфологічні показники росту проростків за умов посухи

Варіант	Схожість насіння, %	Площа поверхні листків, см ²	Маса сухої речовини надземної частини, мг	Маса сухої речовини коренів, мг
Аскорбінова кислота				
Контроль 0	73,3±3,1	10,42±1,14	19,74±0,53	14,33±0,30
Контроль 1	46,7±2,4	5,30±0,55	9,92±0,55	11,54±0,46
$3 \cdot 10^{-5}$	57,8±2,6	5,90±1,02	11,74±0,41	18,15±0,49
10^{-4}	62,2±2,2	6,57±0,34	15,69±0,49	13,51±0,42
$3 \cdot 10^{-4}$	59,0±2,2	6,66±0,51	11,86±0,28	13,35±0,52
10^{-3}	57,8±3,0	5,97±0,49	10,43±0,46	13,44±0,54
Саліцилова кислота				
Контроль 0	77,2±2,4	8,69±0,37	13,83±0,60	14,08±0,62
Контроль 1	43±3,4	4,22±0,33	10,42±0,53	10,21±0,60
$3 \cdot 10^{-5}$	54±2,8	5,70±0,47	12,61±0,67	11,38±0,46
10^{-4}	52±2,4	5,72±0,38	12,82± 0,36	15,18±0,34
$3 \cdot 10^{-4}$	58±2,6	6,91±0,36	13,49±0,41	14,71±0,26
10^{-3}	50±2,8	6,40±0,45	13,09±0,31	15,15±0,28
Рутин				
Контроль 0	70±2,4	11,55±0,62	15,41±0,48	8,74±0,34
Контроль 1	40±3,8	7,46±0,44	9,19±0,29	6,51±0,52
$3 \cdot 10^{-6}$	66±3,2	8,95±0,61	11,28±0,33	8,11±0,46
10^{-5}	68±3,4	10,59±0,59	13,87±0,69	8,39±0,36
$3 \cdot 10^{-5}$	65±2,9	10,83±0,58	13,49±0,33	8,62±0,53
10^{-4}	68±3,7	11,45±0,51	13,57±0,44	7,95±0,44

ТАБЛИЦЯ 2. Вплив обробки насіння пшениці рутином, аскорбіновою та саліциловою кислотами на параметри водного режиму і вміст проліну в листках проростків за умов посухи

Варіант	Вміст води, %	Водний дефіцит, %	Інтенсивність транспірації, мг/(см ² · год)	Вміст проліну, мг%
Аскорбінова кислота				
Контроль 0	91,1±0,9	2,8±1,0	1,90±0,10	5,6±0,9
Контроль 1	78,9±0,8	17,9±0,9	0,67±0,05	14,0±1,0
3·10 ⁻⁵	83,3±0,8	5,3±1,0	1,14±0,05	11,0±1,0
10 ⁻⁴	82,0±0,8	4,1±0,9	1,09±0,09	13,5±1,1
3·10 ⁻⁴	84,5±0,7	3,5±0,9	1,12±0,07	14,0±1,0
10 ⁻³	86,5±0,7	3,7±0,9	1,10±0,07	12,5±0,9
Саліцилова кислота				
Контроль 0	89±0,8	3,9±1,0	1,74±0,09	7,5±0,4
Контроль 1	80,6±0,7	15,4±1,1	0,80±0,05	16,0±0,9
3·10 ⁻⁵	81,4±0,6	10,9±1,0	1,19±0,06	15,5±0,7
10 ⁻⁴	81,2±0,6	9,2±0,9	1,20±0,06	15,6±0,7
3·10 ⁻⁴	81,5±0,5	7,3±0,9	1,21±0,07	17,0±0,8
10 ⁻³	83,3±0,6	7,6±1,0	1,42±0,08	16,0±0,9
Рутин				
Контроль 0	90,6±0,7	5,3±0,8	1,55±0,08	13,0±0,6
Контроль 1	77,8±0,6	19,7±0,9	0,95±0,05	24,0±1,2
3·10 ⁻⁶	85,2±0,8	11,9±0,8	1,20±0,06	18,0±0,8
10 ⁻⁵	85,2±0,8	12,5±0,9	1,14±0,05	19,0±1,0
3·10 ⁻⁵	85,9±0,9	12,4±0,8	1,20±0,05	21,0±1,0
10 ⁻⁴	84,5±0,8	13,5±1,0	1,15±0,05	22,0±1,0

ренів було меншим у варіантах із дефіцитом вологи в ґрунті. У разі замочування насіння пшениці в розчинах АК концентрацією 3·10⁻⁵ моль/л і СК концентрацією 10⁻⁴—10⁻³ моль/л маса кореневої системи проростків в умовах посухи була навіть більшою, ніж за умов оптимального зволоження ґрунту (контроль 0).

За стресових умов у проростків пшениці спостерігали зневоднення тканин листків і збільшення їх водного дефіциту (див. табл. 2). Рослини, оброблені розчинами АК, СК і Ру, мали кращі показники водного режиму, ніж у контролі 1. В умовах посухи інтенсивність транспірації в листках проростків пшениці знижувалась в 1,5—3 рази порівняно з контролем 0 (див. табл. 2), що було пов'язано з втратою води тканинами листків і наростанням водного дефіциту. Рослини, які виростили з насіння, попередньо обробленого розчинами АК, СК, мали показник інтенсивності транспірації в 1,5—1,7 раза більший, ніж у контролі 1. Ру виявився дещо менш ефективним, ніж АК і СК. Підвищення інтенсивності транспірації може означати, що в рослин пшениці активніше відбувалися процеси газообміну, що сприяло збільшенню здатності до відновлення росту після припинення дії стресових умов. Отримані нами дані добре узгоджуються з результатами інших авторів [13, 14], які довели, що екзогенна СК

стимулює фотосинтез, відкривання продихів та інтенсивність транспірації в рослинах сої, кукурудзи, соняшника.

За умов посухи в листках проростків пшениці вміст проліну збільшувався в 1,5–2,5 раза порівняно з контролем 1 (див. табл. 2). Рослини, оброблені розчином СК, мали приблизно такий самий рівень проліну, як і рослини в контролі 1. Рослини, оброблені розчинами АК (концентрацією 10^{-3} моль/л) і Ру, мали дещо нижчий рівень проліну, ніж у контролі 1, але вищий, ніж у контролі 0 з оптимальною вологістю ґрунту. Отже, протекторний ефект досліджених речовин не можна пояснити їх впливом на метаболізм проліну. Ймовірнішим є механізм, пов'язаний із морфологічними змінами, зокрема з посиленням розвитку кореневої системи. Доведено, що СК і Ру можуть бути індукторами антиоксидантних систем у клітині, а також здатні модифікувати деякі сигнальні системи пов'язані з розвитком стрес-реакцій [18]. Оскільки результати обробки насіння рослин фізіологічно активними речовинами спостерігали через певний час після експонування (3 тижні), їх дія очевидно мала сигнальний характер.

Більшість досліджень присвячена вивченню безпосереднього впливу АК і СК на рослини, що знаходились у стресових умовах. Лише в окремих працях розглянуто індуквану стійкість рослин, що виростили з обробленого насіння [9, 14, 16]. Згідно з даними Сахабутдінової та співавт. [16], така індуквана стійкість рослин пшениці може бути пов'язана із сигнальним впливом СК на баланс ауксинів, цитокинінів та АБК.

Отже, отримані нами результати підтвердили перспективність застосування АК і СК для підвищення посухостійкості рослин. Індукцію стійкості рослин до посухи після обробки їх насіння Ру виявлено вперше.

1. Александрова Л.Н., Найденова О.А. Лабораторно-практические занятия по почвоведению. — Л.: Колос, 1976. — 280 с.
2. Григорюк И.А., Ткачев В.И., Савинский С.В., Мусиенко Н.Н. Современные методы исследований и оценки засухо- и жароустойчивости растений: Метод. пособие. — Киев: Наук. світ, 2003. — 139 с.
3. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. — М.: Высш. шк., 1974. — 214 с.
4. Иващенко Г.О., Иващенко О.О. Шляхи адаптації землеробства в умовах змін клімату // 36. наук. праць Ін-ту землеробства УААН. — К.: ВД «ЕКМО», 2008. — Спецвипуск. — С. 15–21.
5. Практикум по физиологии растений / Под ред. Н.Н. Третьякова. — М.: Агропромиздат, 1990. — 272 с.
6. Ромащенко М.І., Рокочинський А.М., Галік О.І. та ін. Оцінка впливу глобального потепління на природно-меліоративний режим зони Західного Полісся України // Вісн. Нац. ун-ту водного господарства та природокористування. — 2008. — 1, № 41. — С. 148–157.
7. Стаценко А.П., Бутылкин Ф.А. Биохимический прогноз жаростойкости у зерновых и бобовых культур // Достижения науки и техники. — АПК. — 1999. — № 7. — С. 29–30.
8. Чухаина Г.Н. Система аскорбиновой кислоты растений. — Калининград: Изд-во Калинингр. ун-та, 1997. — 110 с.
9. Afzal I.S., Maqsood A., Basra N., Farooq A.M. Optimization of hormonal priming techniques for alleviation of salinity stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Caderno de Pesquisa Bio. — Santa Cruz do Sul. — 2005. — 17, N 1. — P. 95–109.
10. Conklin P.L., Barth C. Ascorbic acid, a familiar small molecule intertwined in the response of plants to ozone, pathogens, and the onset of senescence // Plant Cell Environ. — 2004. — 27. — P. 959–970.
11. Gunes A., Inal M., Alpaslan N. et al. Effects of exogenously applied salicylic acid on the induction of multiple stress tolerance and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) // Arch. Agr. and Soil Sci. — 2005. — 51. — P. 687–695.
12. Kathiresan K., Kalyani V., Gnanarethinam I.L. Effect of seed treatments on field emergence, early growth and some physiological processes of sunflower (*Helianthus annuus* L.) // Field Crops. Res. — 1984. — 9. — P. 215–217.

13. Khan W., Prithviraj B., Smith D.L. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates // J. Plant Physiol. — 2003. — **160**, N 5. — P. 485—492.
14. Khodary S. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt-stressed maize plants // Int. J. Agr. Biol. — 2004. — **6**, N 1. — P. 5—8.
15. Mishra A., Choudhuri M.A. Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane degradation mediated by lipoxygenase in rice // Biol. Plant. — 1999. — **42**, N 3. — P. 409—415.
16. Sakhabutdinova A.R., Fatkudinova D.R., Bezrukova M.V., Shakirova F.M. Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors on wheat plants // Bulg. J. Plant Physiol., Special Issue. — 2003. — **21**, N 3—4. — P. 314—319.
17. Senaratna T., Touchell D., Bumm E., Sixon K. Acetyl salicylic (Aspirin) and salicylic acids induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants // Plant Grow. Regul. — 2000. — **30**. — P. 157—161.
18. Williams R.J., Spencer I.P., Rice-Evans C. Flavonoids: antioxidants or signaling molecules? // Free Radical. Biol. Med. — 2004. — **36**, N 7. — P. 838—849.
19. Zheng Y., Lyons T., Ollerenshaw J.H., Barnes J.D. Ascorbate in the leaf apoplast is a factor mediating ozone resistance in *Plantago major* // Plant Physiol. Biochem. — 2000. — **38**, N 5. — P. 403—411.

Отримано 08.06.2010

ВЛИЯНИЕ РУТИНА, АСКОРБИНОВОЙ И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ

Н.П. Дидык, Н.В. Росицкая, Л.Д. Беробеничук

Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко Национальной академии наук
Украины, Киев

Изучено влияние обработки семян пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Днипрянка) растворами рутина, аскорбиновой и салициловой кислот разных концентраций на функциональное состояние проростков пшеницы в условиях засухи. Установлен положительный эффект, который зависел от концентрации и типа действующего вещества, а именно: обработка улучшала всхожесть семян, показатели роста (площадь поверхности листьев, масса надземных частей и корней) и водного режима (обводненность, водный дефицит, интенсивность транспирации листьев) у проростков пшеницы. Полученные результаты подтвердили перспективность применения аскорбиновой и салициловой кислот для индукции засухоустойчивости растений. Индукция стойкости растений к засухе после обработки семян рутином выявлена впервые.

THE EFFECT OF RUTIN, ASCORBIC AND SALICYLIC ACIDS ON THE FUNCTIONAL STATE OF WHEAT PLANTS UNDER DROUGHT CONDITIONS

N.P. Didyk, N.V. Rositska, L.D. Berebenichuk

M.M. Gryshko National Botanical Garden, National Academy of Sciences of Ukraine
1 Timiryazevska St., Kyiv, 01014, Ukraine

The effect of treatment of wheat seeds (*Triticum aestivum* L., cv. Dniprianka) with the solutions of rutin, ascorbic and salicylic acids in various concentrations on the adaptation to drought conditions was studied. The positive effect, which depended on concentration and the type of the active substance, was established. In particular, the treatment improved seed germination, growth parameters (leaf area, shoot and root dry weights) as well as plant-water balance (increased leaf moisture, transpiration rate and reduced water deficit in leaves) of wheat seedlings. The results obtained confirmed the prospects of application of ascorbic and salicylic acids for induction of tolerance to drought in plants. The induction of plant tolerance to drought after treatment of their seeds with rutin was shown for the first time.

Key words: *Triticum aestivum* L., physiologically active substances, adaptation, drought.