

УДК 573.6.086:633.16

А.А. Нуржанова*, Л.А. Тохетова, Б.С. Сариев,
Ж.С. Кудиярова, С. Ораз, А.С. Нурмагамбетова, Г.Ж. Билялова

Институт биологии и биотехнологии растений,
Республика Казахстан, г. Алматы
*E-mail: gen-asil@mail.ru

Ранняя диагностика сортов и сортообразцов ячменя на устойчивость к засолению

Проведена сравнительная агроэкологическая характеристика комплекса физиологических и биохимических показателей при выращивании 16 сортов и 77 сортообразцов ячменя конкурсного питомника ячменя в разных условиях засоления (0,5-2% NaCl). Установлено, что физиологические биотесты (масса проростков, длина первичной корневой системой, длина калеоптиля) и биохимические (коэффициент солеустойчивости по активности свободного пролина в листьях проростков ячменя) являются наиболее показательными тестами солетолерантности. Эти тесты надежнее дифференцируют сорта и сортообразцы на солетолерантные и солечувствительные, по сравнению с другими лабораторными способами, кроме того, данные методы сокращают время выявления устойчивых образцов для генетико-селекционных исследований. Выявлено 6 образцов (59/87-2К, 9-95-2К, 89/83-4, 27/06-8, 3/24-01 и 164/99-4) и один сорт Сыр-Аруа устойчивых к засолению.

Ключевые слова: ячмень, физиология, биохимия, солеустойчивость, Солечувствительность.

A.A. Nurzhanova, L.A. Tochetova, B.S. Sariev, Zh.S. Kudiyarova,
S. Oras, A.S. Nurmagambetova, G.Zh. Bilualova

The early diagnosis of cultivar and samples of barley on resistance to salinity

Has been held the comparative agro ecological characterization of complex physiological and biochemical parameters in growing 16th cultivars and of 77 variety samples of barley under different conditions of salinity (0.5-2% NaCl). Found that the physiological biotests (weight of seedlings, the length of the primary root system and length of coleoptile) and biochemical biotest (coefficient of tolerance to salt by the activity of free proline in the leaves of seedlings barley) are the most indicative tests of tolerance to salt. These tests reliably differentiate samples on salt-tolerant and salt sensitive samples of barley compared with other laboratory methods; in addition, these methods reduce the time to identify sustainable models for genetic and breeding research. Found a six variety samples of barley (59 87-2K, 9-95-2K, 89/83-4, 27/6.8, 3/24-01 and 164 99-4) and one a cultivar of barley of Syr-Arua which are resistance to salinity.

Key words: barley, physiology, biochemistry, salt tolerance, salt sensitive.

А.А. Нуржанова, Л.А. Тохетова, Б.С. Сариев, Ж.С. Кудиярова,
С. Ораз, А.С. Нурмагамбетова, Г.Ж. Билялова

Арпаның сорттары мен сорт үлгілерін тұзға төзімділігі бойынша ерте кезеңіндегі диагностикасы

Конкурстық тәлімбақтағы арпаның 16 сорт пен 77 сорт үлгілерін тұздылығы әртүрлі (0,5-2% NaCl) жағдайларда өсіру кезінде физиологиялық және биохимиялық көрсеткіштер жиынтығының салыстырмалы агроэкологиялық ерекшелігі сипатталды. Физиологиялық биотесттер (көшет салмағы, негізгі тамыр жүйесінің ұзындығы, калеоптильдің ұзындығы) мен биохимиялық (арпа көшеттерінің жапырақтарындағы еркін пролиннің белсенділігі бойынша тұзға төзімділік коэффициенті) қос толерантты тест көрсеткіштері болып табылады. Басқа зертханалық әдістермен салыстырғанда, бұл тесттер тұзға сезімтал және тұзға төзімді сорт пен сорт үлгілерін сенімдірек дифференциациялайды.

сонымен қатар берілген әдістер генетикалық-селекциялық зерттеулерге арналған төзімді сорттарды анықтау уақытын қысқартады. Тұзға төзімді 6 үлгі (59/87-2К, 9-95-2К, 89/83-4, 27/06-8, 3/24-01 және 164/99-4) және бір Сыр-Аруа сорты шығарылды.

Түйін сөздер: арпа, физиология, биохимия, тұзға төзімділік, тұзға шыдамдылық.

Введение

В условиях Казахстана одна из важнейших проблем выращивания сельскохозяйственных культур, включая и ячмень – сильное хлоридно-сульфатное засоление почв и восприимчивость районированных сортов к соли. Интродукция зарубежных сортов не может решить проблему преодоления негативного комплексного влияния лимитирующих факторов среды, сугубо специфичных для зоны конкретного районирования, поэтому решающее значение приобретают сорта местной селекции [1]. Районированные сорта ярового ячменя Сауле, Асем, Жулдыз хотя и обладают признаками соле-, засухоустойчивости, но в полной мере не приспособлены к условиям среды, особенно в регионах Кызылординской области.

Стратегия селекции ячменя в условиях засоленных почв, возделываемая в основном в качестве покровной культуры многолетних трав, прежде всего, предусматривают создание устойчивых скороспелых сортов к абиотическим и биотическим факторам среды [2]. Успех селекционной работы во многом зависит, прежде всего, от наличия исходного материала для селекции, а также эффективных методов оценки селекционного материала и знания физиолого-биохимических механизмов формирования показателей устойчивости к абиотическим факторам среды. При засолении почвы в растениях накапливается большое количество ионов солей, в связи с этим изменяется интенсивность многих физиолого-биохимических процессов в растительном организме: снижения всхожести семян и интенсивности роста растений. В подверженных засухе или солевому стрессу тканях растительного организма возрастает концентрация свободного пролина [3-5].

Цель данной статьи использование физиологических и биохимических тестов для идентификации солеустойчивых и солеустойчивых образцов ячменя.

Материалы и методы

Объектом исследования служили 16 сортов, 77 сортообразцов ячменя из коллекции богарно-

го и поливного направления КазНИИЗиР МСХ РК научно-производственного центра земледелия и растениеводства АО «Казагроинновация» и ТОО «КазНИИ рисоводства им. И. Жахаева. В качестве сорта-контроля использовали районированный в условиях рисового севооборота солеустойчивый сорт ячменя Асем.

Для скрининга сортов и ортообразцов ячменя на солеустойчивость на ранних этапах онтогенеза первоначально семена проращивали в чашках Петри в 0,5, 1, 1,5 и 2% NaCl среде и водной культуре в термостате (25°C) в темноте в течение 3 суток. Повторность по каждому образцу – двухкратная. В каждом варианте проращивали по 100 семян. По количеству выживших и погибших проростков определяли всхожесть по методике Г.В.Удовенко [6]. Интегрированный индекс солевыносливости (ИИСВ %) – средний показатель всхожести семян [7].

При изучении изменчивости ростовых показателей сортов и сортообразцов ячменя семена были выращены в 1% растворе NaCl и водной культуре в термостате (25°C) в темноте в течение 14 суток. Повторность по каждому образцу – двухкратная. У 14 дневных проростков ячменя измеряли массу и длину корневой системы и надземной части. В каждом варианте проращивали по 100 семян. Изменчивость ростовых показателей сортов и сортообразцов определяли в процентном отношении относительно контроля [6].

При использовании ростовой реакции калеоптильных биотестов семена отобранных для анализа образцов ячменя калибровали (по 100 семян), далее замачивали в течение 3-х часов в проточной воде, раскладывали в чашки Петри на влажной фильтровальной бумаге и проращивали в термостате при температуре 25°C. На третий день (72 часа), когда основная масса семян образовала проростки длиной 2,5 см, их срезали, а затем из каждого проростка вырезали участки колеоптиля длиной 4 мм. Отрезки помещали на фильтровальную бумагу (в чашку Петри), смоченную водой (контроль) и растворами 1% NaCl и 2% NaCl и закладывали их на проращивание в термостат при температуре 25°C. Через сутки с помощью миллиметровой бумаги измеряли длину каждого биотеста, с точностью до 0,1 мм, а

затем вычисляли средний прирост на воде и на растворе соли. Повторность по каждому образцу – трехкратная. Степень измерения прироста биотестов в растворе соли (в процентах к контролю) был показателем солеустойчивости образца [8].

Содержание пролина определяли в вегетативных органах проростков по методу, описанному L.S. Waters., R.P. Waldern, I.D. Teare [9]. Для этого образцы ячменя проращивали в течение 14 дней в 1% растворе NaCl и воде. Коэффициент солеустойчивости определяли, как отношение концентрации свободного пролина в листьях проростков ячменя, выращенных на солевом растворе к контрольной: высокоустойчивые к засолению ($K_c - 3,0$), среднеустойчивые ($K_c - 2,0-2,9$) и слабоустойчивые ($K_c - 1,9$ и ниже) [10].

Все экспериментальные данные статистически обрабатывали общепринятыми методами [11], построение графиков, диаграмм проводили после обработки данных с использованием компьютерной программы «Microsoft Excel».

Результаты и их обсуждение

При проведении скрининга сортов и сортообразцов ячменя конкурсного питомника в лабораторных исследованиях на солеустойчивость использовали следующие показатели: значения ИИСВ, калеоптильный биотест, длину и массу надземной и корневой системы объективно отражающих резистентность образцов на ранних этапах онтогенеза, вследствие их высокой наследуемости. Эффективность ранней диагностики подтверждено в полевых условиях, устойчивые к засолению образцы имели высокую продуктивность в полевых условиях Кызылординской области (таблица 1).

Выявлено, что сорта и сортообразцы из коллекции КазНИИ рисоводства им. И. Жахаева являются более адаптивными к засолению, чем сорта из коллекции КазНИИЗиР МСХ РК относительно стандарта. У образцов из коллекции КазНИИ рисоводства им. И. Жахаева в условиях 1% NaCl среде ИИСВ достигал 95%, в 1,5% NaCl среде – до 85 %, а в условиях 2% NaCl – до 57%, а у образцов из коллекции КазНИИЗиР МСХ РК – 75, 42 и 13% соответственно. Характер онтогенетического ответа на засоление зависит от концентрации NaCl в среде. В условиях от 1 до 2% NaCl сорта Жан, Илек 16, Азык, Акжан, Шынар и 32 сортообразца имели либо низкую всхожес-

ть, либо не произрастали вообще, что свидетельствует об их чувствительности к условиям засоления.

Широкий размах фенотипической изменчивости морфологических признаков у образцов ячменя позволяет идентифицировать их на солеустойчивые и относительно солеустойчивые. Установлено в условиях 1%NaCl слабая степень изменчивости (C_v 6,3-10,2%) наблюдалось по всхожести и массе проростка, а сильная изменчивость (C_v 21,7-30,4%) – по длине, длине калеоптиля и массе корневой системы.

Статистически значимое ингибирование ростовых показателей растений, выражающееся в снижении накопления биомассы и уменьшения показателей роста относительно контроля, было характерно для всех изученных образцов ячменя. Причиной ростигибирующего влияния хлорида натрия объясняют тем, что на раннем этапе ограничен транспирационный поток, вызванного снижением устьичной проводимости, в результате накопления абсцизовой кислоты в побегах растений и, ингибированием гидролиза запасных питательных веществ и их транслокации в растущие ткани надземных органов [12-15]. Однако единичные генотипы отличились относительно высокой устойчивостью к условиям засоления. У некоторых образцов было выявлено незначительное снижение биомассы вегетативных органов относительно контроля, выраженные не только в повышенной всхожести, но и повышения длины проростков и первичных зародышевых корней и их биомассы. Среди изученных 16 сортов и 77 сортообразцов были выделены относительно устойчивые к засолению образцы по массе проростков, длине первичной корневой системой следующие образцы: 164/99-4, 9/95-26К, А71/05-1, 27/99-3, Сыр-Аруы, Арна, Инкар, Бота, Север 1, Сымбат, Илек 42, Одесский 100 относительно стандарта Асем.

Учитывая важную роль пролина в адаптации к абиотическим факторам среды, целью данного раздела явилось изучение накопления свободного пролина у разных образцов ячменя, так считают, что определение отношения концентрации пролина в листьях проростков ячменя, выращенных в солевом растворе к контрольной является наиболее показательным биотестом солеустойчивости

Самый высокий коэффициент солеустойчивости ($K_c - 3,0$) согласно классификации имели сорта Сыр-Аруа и Асем. Сорт Сыр-Аруа акку-

мулировал 6,8% пролина на мг сырой массы, превышая контроль до 3 раз.

При определении пролина в проростках 24 сортообразцов выделено 6 образцов (59/87-2К, 9-95-2К, 89/83-4, 27/06-8, 3/24-01 и 164/99-4), как высокоустойчивые к условиям засоления. Например, сортообразец 164/99-6 аккумулялировал 10,9% пролина на мг сырой массы, превышая контроль до 4 раз.

Из-за низкого уровня Кс (ниже 1.9) выделена группа образцов, как слабоустойчивая. Это Акжан, Азык, Шынар, Илек 16, 88-99-2, 3/8-01, 4-06-1, 103/99-2, 3/04-1, 3/04-4, 89/83-5, 27/99-2, 17/99-5, 5/54-01. Так, сорт Илек 16 накапливал в листьях в

условиях засоления 3,2% на мг сырой массы, а в контроле 2,5% на мг сырой массы (Кс – 1,3).

Выделена третья группа образцов с коэффициентом солеустойчивости в пределах 2-2,9, как среднеустойчивая. Это – образцы Сымбат, Север 1, Сауле, Илек 43, Арна, 65/99-11, А45/05, -103/99-9, 37/06-1, 26/98-8, 3/95-12 и А3/05-2.

Анализируя результаты исследования, следует отметить, что на раннем этапе онтогенеза использование комплекса физиологических биотестов позволяет вывить относительно солевыносливые и солечувствительные образцы, а биохимическим тестом – устойчивые и чувствительные к засолению образцы.

Таблица 1 – Морфобиологические особенности относительно устойчивых и чувствительных сортов и сортообразцов ячменя, произрастающие в условиях Кызылординской области

Образцы	Всхожесть	Длина корневой системы	Масса корневой системы	Длина калеоптиля	Урожайность, ц/га
	% к st	% к st	% к st	% к st	
Асем st					18,5
Относительно устойчивые к засолению образцы					
Сыраруы	95	123	109	104	22,4
Инкар	90	122	105	105	23,5
Сауле	94	106	100	118	24,9
Одесс100	90	109	102	109	26,5
Арна	89	102	100	113	23,0
Сымбат	92	118	100	100	29,5
Север – 1	89	131	113	103	29,8
Илек 42	88	100	100	111	20,2
9/95-26К	88	103	100	125	22,0
164/99-4	85	100	102	102	24,3
А71/05-1	86	111	102	100	28,7
27/99-3	88	100	102	107	-
65/99-11	85	100	100	120	29,2
Чувствительные к засолению образцы					
Жан	30	60	57	Нет роста	5,5
Илек 16	37	77	65	Нет роста	-
Акжан	75	67	69	Нет роста	4,2
89/83-5	74	87	80	41	-
Азык	70	49	65	Нет роста	4,2
26/98-8	72	75	68	46	-
3/24-01	76	78	86	40	-
5-00-8	74	85	78	32	-

Литература

- 1 Удовенко Г.В. Формирование признака солеустойчивости растений и методы его диагностирования // Физиология растений в помощь селекции: Сборник научных трудов. М.: Наука. –1974 – С. 96-108.
- 2 Тохетова Л. А. Модель сорта ярового ячменя для условий рисовых систем Казахстанского Приаралья // «Новости науки Казахстана». – № 4. – 2008. – С. 136-139
- 3 Кузнецов В.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. – 1999. – Т. 46. – С. 321-336.
- 4 Кафи М., Стюарт В. С., Борланд А. М. Содержание углеводов и пролина в листьях, корнях и апексах сортов пшеницы, устойчивых к засолению // Физиология растений – 2003. – Т.50, № 2. – С. 174-182.
- 5 **Terao Y., Nakamori Sh., Takagi H.** Gene Dosage Effect of L-Proline Biosynthetic Enzymes on L-Proline Accumulation and Freeze Tolerance // Applied and Environmental. – 2003. – Vol. 69, № 11. – P. 6527-6532.
- 6 Удовенко Г.В. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям (методическое руководство) – Ленинград, 1988 – С. 89.
- 7 Определение солеустойчивости по прорастанию семян в солевых растворах – 1989. – Ленинград: Методические указания ВИР. – С.14.
- 8 Синельникова В.Н Удовенко Г.В. Способ диагностики солеустойчивых злаков по ростовой реакции калеопильных биогестов // Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: Методич. Руководство – Ленинград, 1988 – С. 85–97.
- 9 Baters L.S., Waldern R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant Biol. – 1973. – P. 205-207.
- 10 Патент Российской Федерации. № ГР 2181240. Способ оценки солеустойчивости растений патент // Вихрева В.А., Блинохватов А.Ф., Стаценко А.П., Хрянин В.Н. от 20.04.2002.
- 11 Рокицкий П.П. Биологическая статистика. – 1976. – Минск: Выш. школа, – С. 250.
- 12 Nevo E., Guoxiong Chen. Drought and salt tolerances in wild relatives for wheat and barley improvement // Plant, Cell and Environment. – 2010. – Vol. 33. – P. 670-685.
- 13 Иванов Ю.в., Карташов А.В., Савочкин Ю.В. Устойчивость всходов *Pinus silvestris* и *Picea abies* к солевому стрессу // Лестной вестник. – 2010. – № 3 (72). – С. 119-122.
- 14 Архипова Т.Н., Шарипова Г.В., Кудоярова Г.Р. Накопление абсцизовой кислоты, ионов натрия и рост растений разных сортов ячменя при засолении // Агрохимия. – 2011. – № 1. – С. – 42-47
- 15 Шихмуратов А.З., Альдерова А.А. Генетический контроль проростковой устойчивости к NaCl у образцов твердой пшеницы // Генетика – 2008. – Т. 44, № 11. – С. 1566-1569.

References

- 1 Ydovenko G.V. The formation salt tolerance feature and methods of diagnosis // Plant physiology to help in selection. M.: Science. –1974 – P. 96-108.
- 2 Tochetova L.A. Model of spring cultivars barley for the conditions of rice systems of Aral region in Kazakhstan // Science News of Kazakhstan. – № 4. – 2008. – P. 136-139
- 3 Kuznezov V.B., Zhevuakova N.I. Proline under stress: biological role, metabolism, regulation // Plant physiology – 1999. – Vol. 46. – P. 321-336.
- 4 Kaphi M., Stuart B.S., Borland A.M. The content of carbohydrates and proline in the leaves, roots and apex of resistant to salinity cultivars wheat // Plant physiology – 2003. – Vol. 50, № 2. – P. 174-182.
- 5 **Terao Y., Nakamori Sh., Takagi H.** Gene Dosage Effect of L-Proline Biosynthetic Enzymes on L-Proline Accumulation and Freeze Tolerance // Applied and Environmental. – 2003. – Vol. 69, № 11. – P. 6527-6532.
- 6 Ydovenko G.V. Diagnosis of plant resistance to stresses (methodological guide) – Leningrad, 1988 – P. 89.
- 7 Determination of salt tolerance at germination in saline solutions – 1989 – Leningrad: Methodical instructions VIR. – P.14.
- 8 Sinelnikova V.N., Ydovenko G.V. Method of diagnosing salt-tolerant cereals on the growth reaction kaleoptilnyh bioassays // Diagnostics plant resistance to stress factors: Methodical instructions – Leningrad, 1988 – P. 85–97.
- 9 Baters L.S., Waldern R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant Biol. – 1973. – P. 205-207.
- 10 Patent of the Russian Federation. № GR 2181240. Method of evaluating salt-tolerance of plants patent // Vihreva V.A., Blinohvatov A.F., Statcenko A.P., Hryanin V.N. from 20.04.2002.
- 11 Rokitsky P.P. Biological Statistics. – 1976 – Minsk: Higher school, – P. 250.
- 12 Nevo E., Guoxiong Chen. Drought and salt tolerances in wild relatives for wheat and barley improvement // Plant, Cell and Environment. – 2010. – Vol. 33. – P. 670-685.
- 13 Ivanov Y.V., Kartashov A.V., Savochkin Y. The stability of seedling *Pinus silvestris* and *Picea abies* to salt stress // fluttering vestnik. – 2010. – № 3 (72). – P. 119-122.
- 14 Arkhipova T.N., Sharipov G.V., Kudoyarova G.R. Accumulation of abscisic acid, sodium ions and the growth of plants of different varieties of barley under saline // Agrochemistry. – 2011. – № 1. – P. – 42-47
- 15 Shihmuratov A.Z., Alderova A.A. Genetic control of plantlets resistance to NaCl samples of durum wheat // Genetics – 2008. – Vol. 44, № 11. – P. 1566-1569.