

УДК 633.16:581.19:631.53.01

UDK 633.16:581.19:631.53.01

ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ НА СОДЕРЖАНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ В СУХИХ СЕМЕНАХ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ**ECOPHYSIOLOGICAL INFLUENCE ON ASCORBIC ACID AND GLUTATHIONE CONTENT IN SPRING BARLEY SEED**

Ковалёва Ольга Николаевна
аспирант

Азово-Черноморская агроинженерная академия, г. Зерноград Ростовской области, Россия

Kovaljeva Olga Nikolaevna
postgraduate student

Azov-Black Sea State Agro-Engineering Academy, Zernograd, Russia

В статье дан анализ содержания аскорбиновой кислоты и глутатиона в сухих семенах ярового ячменя различных сортов и влияние на накопление этих низкомолекулярных антиоксидантов в условиях года репродукции семян

The content of ascorbic acid (AA) and glutathione (GSH) in spring barley seed of four varieties depends upon hydro-temperature environment (HTE) in different way. The genotype and HTE have equal input on AA content (35 and 34,8 %), and GSH content depends mainly upon "genotype-HTE" interaction (67,6 %).

Ключевые слова: ЯЧМЕНЬ, АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА, ГЛУТАТИОН, ОБЩАЯ РЕДУЦИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ

Keywords: BARLEY, ASCORBIC ACID, GLUTATHIONE, SUMMERING REDUCTION CAPACITY

Прорастание семян сопровождается активацией генома и различных физиолого-биохимических процессов. Энергетическое жизнеобеспечение клеток зародыша, выходящего из покоя, поддерживается достаточно сложным комплексом митохондриальных окислительно-восстановительных реакций [6]. С повышением метаболических процессов в клетках прорастающих семян наблюдается образование активных форм кислорода, защита от которых осуществляется за счет использования высокоактивной антиоксидантной системы в составе низко- и высокомолекулярных соединений [4]. Одними из важнейших низкомолекулярных антиоксидантов (НАО) являются аскорбиновая кислота (АК) и глутатион (GSH), входящие в состав аскорбат-глутатионового цикла. Аскорбат-глутатионовый цикл является одним из серьёзных барьеров в клетке от повреждающего действия H_2O_2 .

Окислительный стресс является следствием влияния на прорастающие семена засухи, засоления, токсических ионов и других неблагоприятных факторов. Исследования окислительного стресса были проведены большей частью на зелёных вегетирующих растениях [1,8,12], но лишь частично на семенах, как правило, одного сорта [10,11,16]. Нами было изучено

содержание АК и GSH в прорастающих семенах ярового ячменя по микрофенологическим фазам в различных сортах ярового ячменя, отличающихся по устойчивости к недостатку влаги [5]. Было показано, что в процессе прорастания содержание изученных НАО возрастало от фазы «точка» (наклюнувшееся семя) до фазы «проросток». В условиях недостатка влаги содержание АК и GSH снижалось по сравнению с содержанием этих компонентов в семенах, прорастающих в оптимальных условиях. От способности семени при прорастании преодолеть окислительный стресс зависит полноценное развитие проростка и формирование растения. Однако данные по влиянию условий года репродукции семян на накопление в семени НАО разных сортов одной культуры практически не представлены.

Для селекционной работы и производства представляет большой интерес выявить экофизиологическое последствие (гидротермические условия года репродукции семян) на накопление аскорбиновой кислоты и глутатиона в семенах ярового ячменя, что и явилось целью данной работы.

Материалы и методы. Объектом исследования служили семена ярового ячменя селекции Краснодарского НИИСХ Рубикон, Виконт, Стимул, Мамлюк, которые были выращены в учебно-опытном фермерском хозяйстве АЧГАА в 2004 (семена-04), 2006 (семена-06) и 2007 (семена-07) годах. Характеристику гидротермического режима весенне-летнего периода вегетации растений ячменя давали на основании гидротермического коэффициента (ГТК) Селянинова [7].

Для анализа использовали зародыши, которые извлекали из семени.

Содержание АК, GSH и значения общей редуцирующей активности (ОРА) определяли методом Петта в модификации Прокошева [9]. Содержание АК и GSH выражали в $(\text{мг/г}) \cdot 10^{-5}$ на абсолютно сухую массу

(АСМ), которую определяли весовым методом. Полученные результаты подвергали статистической обработке, дисперсионному двухфакторному анализу по методике Доспехова [3] с использованием специальных программ ПК.

Результаты и обсуждение. Экологические условия, как известно, влияют на формирование семян на материнском растении. Для выявления экофизиологического влияния гидротермического режима были изучены семена за три года репродукции, которые отличались по гидротермическим условиям периода вегетации растений ярового ячменя: 2004г. (ГТК=1,4) и 2006г. (ГТК=1,8) являются оптимальными, 2007г. (ГТК=0,5) – острозасушливым.

В результате проведенного исследования по содержанию АК, GSH и значений ОРА в семени были выявлены общие черты накопления НАО в зависимости от года репродукции семян и сортовые различия.

Содержание АК. Наибольшее содержание АК в семени отмечено у сорта Стимул в семенах-04 и в семенах-06 (таблица 1).

Таблица 1 - Содержание аскорбиновой кислоты в семенах различных сортов ярового ячменя за три года ((мг/г)*10⁻⁵ АСМ) и результаты дисперсионного анализа двухфакторного опыта

Генотип (фактор А)	Год репродукции (фактор В)			
	2004	2006	2007	Среднее (В)
Мамлюк	3,30±0,1	2,10±0,1	2,40±0,1	2,60
Рубикон	2,50±0,1	2,33±0,2	1,47±0,1	2,10
Стимул	3,97±0,22	3,47±0,5	1,73±0,1	3,06
Виконт	2,20±0,15	1,50±0,1	1,97±0,2	1,89
Среднее (А)	2,99	2,35	1,89	-
максимум	3,97	3,47	2,40	-
минимум	2,20	1,50	1,47	-
К вар, %	27,1	28,4	14,6	-
НСР ₀₅ (А) = 0,14; НСР ₀₅ (В) = 0,12; НСР ₀₅ (сравнение попарно)=0,25				

Для выявления экофизиологического влияния мы рассчитали взаимодействие «генотип-среда» для четырёх сортов за три года. Различия

по содержанию АК в сухих семенах за разные годы репродукции между сортами достоверны (таблица 1). Внутри каждого сорта в зависимости от года репродукции семян различия также можно считать достоверными.

Методом дисперсионного двухфакторного анализа рассчитали долю влияния различных факторов на содержание АК (рисунок 1).

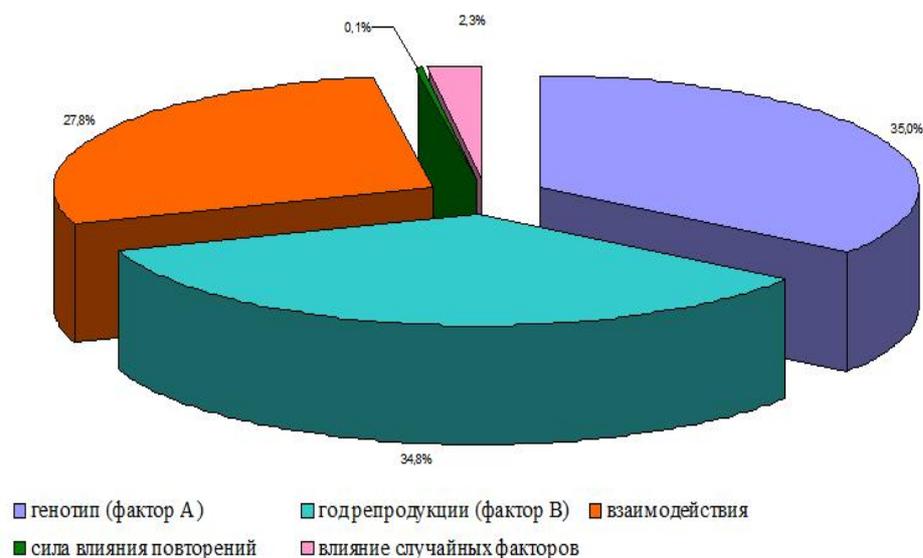


Рисунок 1 - Факторная структура общей дисперсии признака «содержание аскорбиновой кислоты в сухом семени» четырёх сортов ярового ячменя

Существенная роль в накоплении АК на материнском растении принадлежит генотипическим особенностям сорта (35%), а также гидрометеорологическим условиям года репродукции семян (34,8%). Меньшее влияние оказывает взаимодействие этих факторов между собой (27,8%).

Содержание GSH также имеет сортовые особенности и отличия в содержании по годам репродукции семян (таблица 2). Как и в содержании АК, наибольшее накопление GSH выявлено у сорта Стимул у семян-04 и семян-06, а у семян-07 содержание АК ниже в 1,8 раза. Такая же закономерность в изменении содержания GSH в зависимости от гидротермических условий года репродукции наблюдается у сорта

Рубикон: более высокое содержание GSH у семян-04 и -06 и снижение в 1,5 раза у семян-07. Интересно отметить генотипические особенности в накоплении GSH в зависимости от года репродукции. Так, у сортов Мамлюк и Виконт выявлено увеличение накопления GSH с ужесточением условий года репродукции.

Таблица 2 - Содержание глутатиона в сухих семенах различных сортов ярового ячменя за три года, (мг/г)*10⁻⁵ АСМ и результаты дисперсионного анализа двухфакторного опыта

Генотип (фактор А)	Год репродукции (фактор В)			
	2004	2006	2007	Среднее (В)
Мамлюк	21,50±1,9	21,20±1,7	32,20±2,5	24,97
Рубикон	32,30±1,7	29,80±1,6	19,90±2,8	27,33
Стимул	34,5±2,1	46,80±3,6	25,50±1,8	35,47
Виконт	17,70±1,5	24,30±1,7	36,0±0,8	26,00
Среднее (А)	26,40	30,53	28,40	-
максимум	34,50	46,80	36,0	-
минимум	17,70	21,20	19,90	-
К вар, %	31,4	38,9	25,1	-
НСР ₀₅ (А) = 1,31; НСР ₀₅ (В) = 1,14; НСР ₀₅ (сравнение попарно)=2,28				

У сорта Мамлюк по сравнению с оптимальным по гидротермическим характеристикам 2004 годом у семян-07 содержание GSH возрастает в 1,5 раза, а у семени сорта Виконт - в 2 раза. Но при таких сортовых различиях в накоплении GSH коэффициент вариации в острозасушливый 2007г. снижается, что ещё раз подтверждает наш вывод о нивелировании признака в стрессовых условиях.

Различия по содержанию GSH в семенах за разные годы репродукции между сортами достоверны, за исключением семян сорта Мамлюк, полученных в 2004 и 2006 годах (таблица 2).

Результаты дисперсионного анализа позволили выявить характерные факторы, влияющие на накопление GSH в семенах ярового ячменя. Ведущая роль в накоплении GSH в сухих семенах принадлежит взаимодействию факторов (67,6%), а затем следует влияние генотипа

(26,1%). Влияние гидрометеорологические условия года репродукции имеет очень низкое значение (4,3%) (рисунок 2).

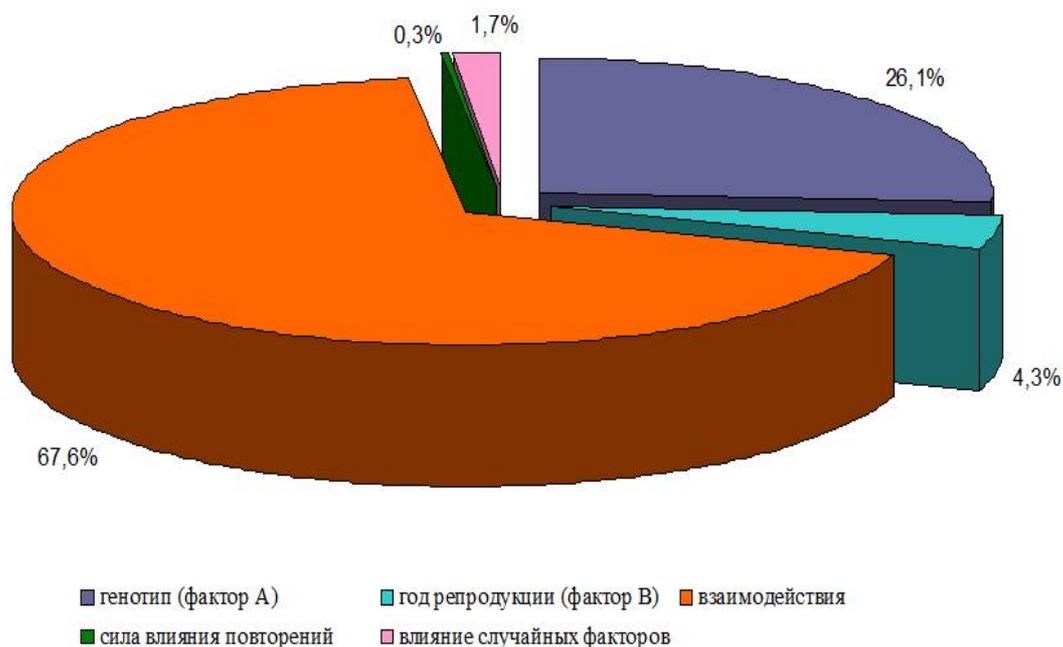


Рисунок 2 - Факторная структура общей дисперсии признака «содержание глутатиона в сухом семени» четырёх сортов ярового ячменя

Значения *ОРА* дают возможность судить о суммарной работе низкомолекулярных антиоксидантов – АК и GSH, поэтому закономерно, что наибольшие значения *ОРА* отмечены у сортов Рубикон и Стимул в разные годы репродукции семян (таблица 3). Самые низкие значения *ОРА* выявлены у сорта Мамлюк по сравнению с другими сортами за все изученные три года репродукции семян. В зависимости от года репродукции внутри каждого сорта снижение значений *ОРА* в острозасушливый год происходит только у сорта Стимул, а у остальных изученных сортов значения *ОРА* даже превышают значения оптимального года, что ещё раз подтверждает существенное влияние на накопление АК и GSH генотипа.

Таблица 3 – Значения ОРА в сухих семенах различных сортов ярового ячменя за три года, (мг/г)*10⁻⁵ АСМ

сорт	Год репродукции		
	2004	2006	2007
Мамлюк	96,5±8,5	89,5±8,4	100,2±9
Рубикон	137,0±4,2	125,5±3,1	140,9±7,5
Стимул	133,3±5,3	194,8±6,18	102,8±7,3
Виконт	102,7±8,2	95,9±4,6	139,6±4,5
среднее	117,4	126,4	120,9
максимум	137,0	194,8	140,9
минимум	96,5	89,5	100,2
НСР ₀₅	46,6	108,4	50,4
К вар, %	17,7	38,1	18,5

Зависимость между содержанием АК и GSH в сухих семенах была выявлена с помощью корреляционного анализа. Установлено, что в семенах-04 наблюдается положительная средняя корреляция ($r = 0,53$), а семенах-06 ($r = -0,1$) и семенах-07 ($r = -0,2$) слабая отрицательная корреляция. Содержание АК и GSH в семенах имеет в среднем по четырём сортам за три года репродукции имеет слабую отрицательную корреляцию ($r = -0,23$)

Заключение. Таким образом, содержание АК в семенах определяется почти в равной степени генотипом и условиями среды. А содержание GSH определяется в первую очередь взаимодействием генотипа и условий среды, а уже затем собственно генотипом. Это может свидетельствовать о том, что изученные генотипы имеют разную реакцию на внешние условия по накоплению GSH в семенах. Содержание АК и GSH в семенах имеет слабую отрицательную корреляцию ($r = -0,23$), что ещё раз подтверждает результаты факторного анализа.

Можно предположить, что более высокое накопление АК и GSH в семенах у сортов Стимул и Рубикон обеспечит большую качественность семян в процессе хранения и лучшую всхожесть даже в условиях

недостатка влаги. Было показано, что сорта Рубикон и Стимул являются более устойчивыми, а сорт Мамлюк является менее устойчивым к недостатку влаги в период прорастания семян [2]. Исследования, проведённые на различных сельскохозяйственных культурах по содержанию НАО, свидетельствуют, что от уровня накопления АК и GSH зависит устойчивость растений к различным видам стресса, таким как загрязнение почвы тяжёлыми металлами [15], радиация [13], засуха [12] и засоление [14].

Ужесточение условий года репродукции семян ярового ячменя существенно снижает содержание АК по сравнению с оптимальным годом, а содержание GSH изменяется в зависимости от генотипа. Значения ОРА в оптимальный год дают более высокие показатели, чем в остро-засушливый. Варьирование содержания АК и GSH в сухих семенах снижается в острозасушливый год. Полученные нами данные по разному влиянию экологических условий на накопление АК и GSH в сухих семенах являются приоритетными.

Список литературы

1. Антонова Г. Ф. Аскорбиновая кислота и развитие клеток ксилемы и флоэмы в стволе сосны обыкновенной // Г. Ф. Антонова, В. В. Стасова, Т. Н. Вараксина // Физиология растений. – 2009. – Т.56, № 2. – С. 210-219
2. Козяева С.Ю. Микрофенологические фазы прорастания семян ячменя: автореф. дис. ... канд. биологических наук – Краснодар, 2009. – 26с.
3. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов // Изд. 4-е, перераб. и доп. – М.: Колос, 1979. – 416 с.
4. Кения М.В. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе / М.В. Кения, А.И., Лукаш, Е.П. Гуськов // Успехи современной биологии. - 1993. – т.113. – вып.4.- с. 456-470.
5. Ковалёва О.Н. Оценка сортов ярового ячменя зерноградской и Краснодарской селекции на устойчивость к окислительному стрессу в период прорастания семян / О.Н. Ковалёва, А.С. Казакова, Е.А. Спичак., Замащиков В.В. // Вестник аграрной науки Дона. Выпуск 3. – 2008. – С. 84-89
6. Обручева Н.В. Физиология инициации прорастания семян / Н.В. Обручева, О.В. Антипова // Физиология растений. – 1997. – т. 44, № 2 – с. 287-302
7. Сапожникова С.А. Опыт агроклиматического районирования СССР / С.А. Сапожникова // В кн.: Вопросы агроклиматического районирования СССР. – М., изд. МСХ СССР. – 1958. – С. 14-37

8. Спивак Е. А. Активность аскорбат-глутатионового цикла в проростках ячменя (*Hordeum vulgare*) при засухе / Спивак Е. А., Шальго Н. В. // Изв. Нац. академии наук Беларуси, серия биологических наук // Минск, 2010. - №3 – С. 73-77
9. Третьяков Н.Н. Практикум по физиологии растений //Н.Н. Третьяков.- М.; Изд-во «КолосС». 2003. –288с.
10. Шаскольский В. Перспективы обогащения продуктов питания витамином С / В. Шаскольский, Н. Шаскольская// "Хлебопродукты" Москва, 2005г. -№10. - С. 40-41.
11. Bonsager B. C., Shahpiri A., Finnie C., Svensson B. Proteomic and activity profiles of ascorbate—glutathione cycle enzymes in germinating barley embryo / *Phytochemistry* - Volume 71, Issues 14-15, October 2010. P. 1650-1656
12. Esfandiari E., Shakiba M. R., Mahboob S. A., Alyari H., Shahabivand S. The Effect of Water Stress on the Antioxidant Content, Protective Enzyme Activities, Proline Content and Lipid Peroxidation in Wheat Seedling / *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11 (15): 1916-1922, 2008
13. Horemans N. Transport and action of ascorbate at the plant plasma membrane //N. Horemans, C.H. Foyer, H. Asard // *Trends in Plant Science*.- 2000.- Vol. 5 (6).- P. 263-267.
14. Joseph B., Jini D. Development of Salt Stress-tolerant Plants by Gene Manipulation of Antioxidant Enzymes / *Asian Journal of Agricultural Research* 5 (1): 17-27, 2011
15. Smirnoff N. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi faceted molecule / N. Smirnoff// *Current Opinion in Plant Biology*.- 2000. Vol. 3.- p. 229-235.
16. Zieliński H., Honke J., Troszyńska A., Kozłowska H. Reduced-Oxidized Glutathione Status as a Potential Index of Oxidative Stress in Mature Cereal Grain // *American Association of Cereal Chemists*, - Vol. 76, No. 6, 1999. – P. 944-948