

УДК 633.31:581.133:632.111.5'6:631.811.98

**ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПРОЛИНА У СОРТОВ ЛЮЦЕРНЫ,  
РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО МОРОЗОСТОЙКОСТИ, ПРИ ОБРАБОТКЕ  
ХЛОРХОЛИНХЛОРИДОМ**

**Н. Н. ТРЕТЬЯКОВ, В. В. ГОМЕР**  
(Кафедра физиологии растений)

Опыты, проведенные с различающимися по морозостойкости сортами люцерны, показали, что накопление свободных аминокислот и изменение их состава под влиянием хлорхолинхлорида и закаливающих температур являются адаптивными признаками в процессе формирования морозостойкости. В результате перестройки обмена веществ проис-

ходило избирательное накопление отдельных аминокислот, играющих важную роль в азотном обмене и выполняющих защитную функцию — связывание излишнего количества аммиака, образующегося при гидролизе белков и дезаминировании аминокислот в период закаливания — промораживание и к моменту возобновления вегетации люцерны. Прямая коррелятивная связь между суммарной концентрацией свободных аминокислот в зоне корневой шейки люцерны и морозостойкостью растений усиливается в период промораживания и к моменту возобновления вегетации. Это можно учитывать при оценке физиологического состояния растений в период действия и последствия критических отрицательных температур [13].

Многие исследователи указывают на существование прямой коррелятивной зависимости между морозостойкостью культуры или сорта и содержанием в растениях отдельных аминокислот [7, 9, 11, 16]. Среди последних особого внимания заслуживает пролин, количество которого в растениях сильно изменяется под влиянием низких температур. Рядом авторов [2, 3, 7, 8, 10, 15] обнаружена тесная связь между накоплением свободного пролина и устойчивостью к низким температурам. Существует мнение, что повышение содержания пролина в стрессовых условиях связано с приостановкой ростовых процессов [9]. Поэтому естественно ожидать изменения содержания пролина в люцерне, обработанной хлорхолинхлоридом. Проверке данного предположения посвящена наша работа.

### Методика

Опыты (3 серии) проводили в лаборатории физиологии растений Тимирязевской академии в 1982—1983 гг. Объектом исследования служила люцерна (*Medicago Varia* Mart.) Северная гибридная 69 (морозостойкий сорт) и Славянская местная (слабоморозостойкий сорт). Растения выращивали в климатической камере КТЛК-1250 в стеклянных литровых сосудах в песчаной культуре на питательной смеси Кнопа. В каждом сосуде оставляли по 6 растений. В фазу 3—4 настоящих листьев люцерну опрыскивали 60 % водным раствором хлорхолинхлорида в концентрации 4 г д. в. на 1 л. Расход рабочей жидкости — 2,5 мл на сосуд. В контроле проводили опрыскивание водой. Световой период 16 ч в сутки, освещенность 70 Вт/м<sup>2</sup>, температура 20°, влажность песка 70 % полной влагоемкости. В фазу 6—7 настоящих листьев растения закаливали при 2° (фотопериод 16 ч в сутки), промораживали и отращивали по методике, описанной ранее [12].

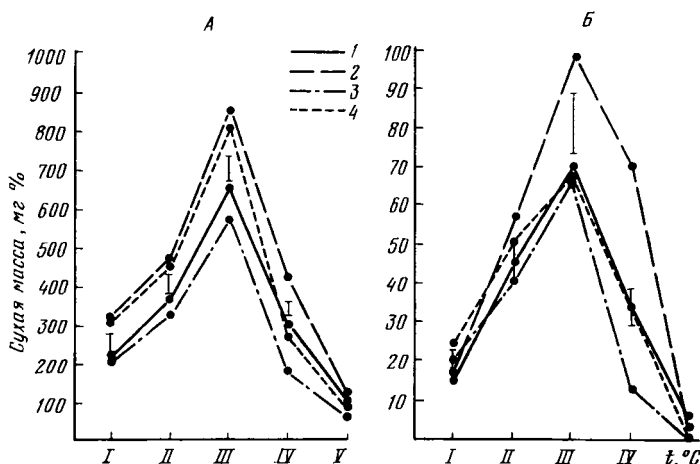
Отбор растительных образцов проводили через 10 сут после обработки хлорхолинхлоридом, в фазу 6—7 настоящих листьев, при 20°, в I (2°) и II (—3°) фазы закаливания, в период промораживания (—9°) и в момент возобновления вегетации (5°). Корни отмывали от песка и просушивали фильтровальной бумагой. Надземные органы срезали над поверхностью сосуда (1,5 см выше корневой шейки), корни — на 1,5 см ниже корневой шейки.

Растительный материал (3 см отрезки зоны корневой шейки) взвешивали, фиксировали в жидком азоте и размалывали в фиксированном виде на лабораторной мельнице. Фракцию свободных аминокислот выделяли 80 % этиловым спиртом по методике Б. П. Плешкова. Анализы проводили в лаборатории зоотехнической оценки кормов и кормления с.-х. животных ВНИИ кормов. Для идентификации аминокислот использовали аминокислотный анализатор Хромаспек (Англия).

### Результаты исследований

До закаливания люцерны, через 10 сут после обработки растений ретардантом, содержание пролина в них было невысоким (5,4—9,0 % от общего пула аминокислот). Менее устойчивый сорт отличался повышенным содержанием пролина. Хлорхолинхлорид стимулировал накопление свободного пролина в тканях корневых шеек обработанных растений. Однако различия в содержании этой аминокислоты в обработанных и контрольных растениях были незначительными (рисунок). Согласно мнению Н. С. Агафонова с соавторами [2], пролин принимает активное участие в метаболических и регуляторных процессах, связанных с формированием морозостойкости при прохождении первой фазы закаливания клеток (положительные температуры, близкие к нулю).

Закаливание люцерны в течение 5 сут при 2° способствовало накоплению свободного пролина в тканях корневых шеек. Содержание



Динамика содержания свободных аминокислот в зоне корневой шейки люцерны.

1, 2 — Северная гибридная; 3, 4 — Славянская местная; 1, 3 — без обработки (контроль); 2, 4 — обработка ССС; I — до закаливания (20°); II — I фаза закаливания (2°); III — II фаза закаливания (-3°); IV — промораживание (-9°); V — возобновление вегетации (5°); А — сумма свободных аминокислот; Б — в том числе содержание пролина.

аминокислоты увеличилось в 2,0—3,2 раза и удельный вес ее в общем пуле аминокислот возрос до 11,3—12,2%. Обработанные хлорхолинхлоридом растения по содержанию пролина существенно превышали контроль. Растения морозостойкого сорта отличались повышенным содержанием пролина, но статистически достоверных различий в содержании этой аминокислоты между изучаемыми сортами не выявлено. В I фазу закаливания между содержанием пролина и уровнем морозостойкости люцерны наблюдалась прямая связь (таблица). Сопряженность между изучаемыми показателями была невысокой ( $r=0,33\div 0,65$ ).

Существует предположение, что пролин, накапливающийся в цитоплазме, благодаря высокой гидрофильности играет важную роль в поддержании гидратации белков и регуляции метаболизма клетки при различных стрессовых состояниях, он используется как источник энергии, а иногда и как источник азота и углерода [5, 6].

В опытах [4, 10] отмечено резкое повышение содержания пролина и выявлено наличие связи между содержанием этой аминокислоты и

Коэффициенты корреляции между содержанием пролина в тканях корневой шейки и морозостойкостью люцерны

Обработанные ССС + не обработанные ССС (n=6)		Северная гибридная + Славянская местная (n=6)		Для всего опыта (n=12)
Северная гибридная	Славянская местная	обработанные ССС	не обработанные ССС	
I фаза закаливания (2°)				
0,65	0,53	0,33	0,45	0,58**
II фаза закаливания (-3°)				
0,77	0,01	0,81*	0,33	0,76**
Промораживание (-9°)				
0,86*	0,84*	0,88*	0,95**	0,94***
Возобновление вегетации (5°)				
—	—	—	—	—

Примечание. Одной, двумя и тремя звездочками обозначена значимость коэффициентов корреляции при P, равном соответственно 0,05, 0,01 и 0,001.

морозостойкостью растений в период смены среднесуточной положительной температуры на отрицательную.

В наших исследованиях содержание пролина после II фазы закаливания увеличивалось в 2,8—5,6 раза. Наибольшим оно было в обработанных растениях морозостойкого сорта, при этом корреляция между содержанием пролина и морозостойкостью усиливалась.

Максимальное накопление пролина в корнях и узлах кушения озимых культур фиксируется в зимний период [7, 10, 14]. В это время узлы кушения растений, обработанных хлорхолинхлоридом, содержат больше пролина, чем в контроле [14].

В период промораживания при  $-9^{\circ}$  содержание пролина в тканях корневых шеек люцерны снизилось в 1,4—4,8 раза по отношению к максимальному содержанию во II фазу закаливания, причем характер снижения содержания пролина зависел от морозостойкости растений. Количество этой аминокислоты уменьшалось у морозостойкого сорта в 2 раза, у слабоморозостойкого — в 4,8 раза (необработанные растения), а в вариантах с обработкой — соответственно в 1,4—2,0 раза. Морозостойкий сорт и обработанные хлорхолинхлоридом растения по содержанию свободного пролина существенно превосходили слабоморозостойкий сорт и контроль. Морозостойкость в вариантах с ретардантом была выше. У сорта Северная гибридная в контроле и при обработке она равнялась соответственно 56 и 78 %, а у сорта Славянская местная — 23 и 39 % ( $НСР_{05}=10,3\%$ ). Коррелятивная связь между содержанием пролина и морозостойкостью люцерны была существенной для всех изучаемых факторов ( $r=0,84\div 0,95$ ).

К моменту возобновления вегетации люцерны концентрация свободных аминокислот, особенно пролина, резко снизилась. В растениях морозостойкого сорта она уменьшилась на 92—97 % по сравнению с максимальным содержанием (II фаза закаливания). В растениях слабоморозостойкого сорта пролин не обнаружен. Физиологический смысл такого изменения содержания пролина до настоящего времени остается неясным. По мнению Н. С. Агафонова с сотрудниками [1], резкое уменьшение содержания пролина можно объяснить его особой ролью в адаптации растений к низким температурам и в репарационных процессах.

Таким образом, накопление пролина в процессе закаливания, относительно высокое содержание его в период действия низких критических температур и резкое снижение к моменту возобновления вегетации свидетельствуют о том, что он в первом случае играет защитную функцию, а в последнем — как высокоэффективное запасующее вещество, поскольку известно, что пролин активно участвует в репарационных процессах [5].

### Заключение

В тканях корневой шейки люцерны, обработанной хлорхолинхлоридом, на протяжении всего опыта, а у растений морозостойкого сорта, начиная с I фазы закаливания, отмечено повышенное количество пролина. Однако тесная прямая зависимость между содержанием пролина и морозостойкостью люцерны выявлена только в период промораживания. В связи с этим нет достаточных оснований рекомендовать данный показатель в качестве диагностического признака морозостойкости люцерны в период ее закаливания.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Агафонов Н. С., Кутовой А. А., Шевченко В. Е. Содержание свободных аминокислот у озимой пшеницы под влиянием условий закаливания и перезимовки. — В кн.: Методы и приемы повышения зимостойкости озимых зерновых культур. М.: Колос, 1975, с. 335—338. — 2. Агафонов Н. С., Кутовой А. А., Шумейко А. Ф. Влияние пролина на метаболические процессы, связанные с морозостойкостью озимой пшеницы. — Сб. науч. работ НИИ сельск. хоз-ва Центр.-Чернозем. полосы им. В. В. Докучаева: Селекция и семеноводство, Защита растений, 1975,

вып. 1, с. 11—18.—3. Бабенко В. И., Махновская М. Л. Повышение морозостойкости озимой пшеницы под действием экзогенных аминокислот.— Докл. ВАСХНИЛ, 1977, № 9, с. 13—15.—4. Белецкая Е. К. Физиологические основы устойчивости озимых культур к избытку влаги. Киев: Наукова думка, 1979.—5. Бритиков Е. А. Биологическая роль пролина.— М.: Наука, 1975.—6. Палфи Г., Бито М., Палфи Ж. Свободный пролин и водный дефицит растительных тканей.— Физиология растений, 1973, т. 20, № 2, с. 233—238.—7. Перуанский Ю. В. Свободный пролин—биохимический маркер морозостойкости озимой пшеницы.— В сб.: Физиология пшеницы. Кишинев: Штиинца, 1981, с. 198—201.—8. Проценко Д. Ф., Ремесло В. Н., Мусич В. Н. Зимостойкость корневых систем озимой пшеницы. Киев: Наукова думка, 1971.—9. Сергеев Л. И. Морфофизиологические исследования зимостойкости древесных растений. В кн.: Физиология зимостойкости древесных растений. М.: Наука, 1964, с. 5—20. 10. Стаценко А. П. Морозостойкость озимой пшеницы в зависимости от предшественников и сроков посева на богарных скрöseмах Казахстана.— Автореф. канд. дис. Алмалыбек, 1982.—11. Стаценко А. П., Перуанская О. Н. Накопление свободных аминокислот и морозостойкость озимой пшеницы.— Вестн. с.-х. науки, 1983, № 3, с. 35—37.—12. Третьяков Н. Н., Паничкин Л. А., Гомер В. В. Изменение морозостойкости люцерны при обработке ее ретардантами.— Изв. ТСХА, 1983, № 5, с. 27—32.—13. Третьяков Н. Н., Гомер В. В. Влияние хлорхолинхлорида на содержание свободных аминокислот в зоне корневой шейки люцерны и морозостойкость растений.— Изв. ТСХА, 1985, вып. 1, с. 105—111.—14. Файзуллин А. Д., Мусич В. А., Савко В. Г. Влияние хлорхолинхлорида на осенний рост, зимостойкость и продуктивность озимой ржи и пшеницы.— В кн.: Влияние корневого питания на зимостойкость и продуктивность озимых хлебных злаков. Уфа: Башк. филиал АН СССР, 1977, с. 64—81.—15. Карпен L., Növig M., Maier M. — Biochem. Physiol. Pflanz., 1978, Bd. 172, N 3, S. 297—304.—16. Tyankova L. — Ber. Dtsch. bot. Ges., 1970, Bd. 83, N 9—10, S. 491—497.

*Статья поступила 5 января 1985 г.*

#### SUMMARY

The article contains data on the effect of chlorcholinechloride (CCC) on content dynamics of free proline in the root neck of two genotypes alfalfa plants of different frost hardiness in periods of cold hardening, freezing and resuming growth.

The plants treated with CCC during the whole experiment and frost-hardy variety plants starting from the first stage of hardening have higher proline content. However, direct correlation between proline content and frost hardiness in alfalfa can be revealed only during freezing it. Frost hardiness under treating with retardants has been considerably higher than without treating.