

## ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ

МАНУКЯН Ирина Рафиковна, Северо-Кавказский научно-исследовательский институт горного и предгорного сельского хозяйства – филиал Владикавказского научного центра Российской академии наук

В статье представлены результаты многолетних исследований физиологических процессов, окислительного стресса, протекающих в растениях пшеницы под влиянием фитопатогенов, минеральных удобрений и фунгицидов. Критериями повреждающего действия окислительного стресса являются активность фермента нитратредуктазы и концентрация ТБК-активных продуктов. В норме сохраняется подвижное равновесие между процессами перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системой защиты клетки (АО). Однако в стрессовых условиях содержание АФК в клетках быстро увеличивается и развивается окислительный стресс. Устойчивость растений ко многим факторам окружающей среды определяется способностью растения сохранять согласованный ход физиологических процессов, не вызывая их существенного нарушения в условиях стресса. Взаимосвязь между процессами ПОЛ и активностью нитратредуктазы (НРА) наблюдалась на всех сортах пшеницы. Было установлено, что сорта по-разному реагировали на дозы удобрений. Между процессами ПОЛ и НРА была установлена высокая отрицательная корреляционная зависимость  $r = -0,83$ . Многие пестициды помимо своего основного целевого воздействия оказывают на растения дополнительные эффекты. Изучались фунгициды из класса триазолов (Байлетон, Тилт, Фундазол). Все они проявили антиоксидантные свойства. Наиболее сильный антиоксидантный эффект отмечен у фунгицида Тилт (пропиконазол). Полученные результаты, касающиеся тесной взаимосвязи между процессами ПОЛ и НРА, позволяют использовать фунгициды из класса триазолов для повышения устойчивости растений к различным стрессовым факторам, активации антиоксидантной системы в растительных клетках, повышения продуктивности. Они как химические иммунизаторы способны одновременно сдерживать развитие болезней и воздействовать на физиолого-биохимические механизмы, усиливающие сопротивляемость растительных организмов к фитопатогенам и другим стрессовым факторам.

34

АГРАРНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

9  
2021

**Введение.** Производство экологически чистой продукции и обеспечение населения безопасными продуктами питания – одни из важнейших задач растениеводства. Современные технологии производства зерна невозможны без применения минеральных и органических удобрений, пестицидов, стимуляторов роста и других химических веществ. Сочетание средств химизации и условий окружающей среды может быть причиной развития в растениях окислительного стресса (ОС) [7,19]. Повреждения ОС могут быть вызваны воздействием высоких или низких температур, дефицитом или избытком влаги, старением, почвенным засолением, патогенными организмами, тяжелыми металлами, различными ксенобиотиками, развитием иммунных реакций сверхчувствительности и др.

Развитие окислительного стресса приводит к образованию и накоплению в растительных тканях и клетках продуктов перекисного окисления липидов и активных форм кислорода (АФК) [10]. В норме сохраняется подвижное равновесие между процессами перекисного окисления липидов и антиоксидантной системой защиты клетки. Однако в стрессовых условиях содержание АФК в клетках быстро увеличивается и развивается окислительный стресс [20].

В большей степени подвержены действию АФК жирные кислоты мембран клеток. Наиболее реакционно-способным из них является малоновый диальдегид (МДА) – один из основных маркеров окислительного стресса [1].

Ключевым ферментом метаболизма нитратов в растениях является нитратредуктаза. Интерес к активности нитратредуктазы объясняется тем, что она является лимитирующим ферментом включения нитратного азота в метаболизм растения. Кроме нитратов индукторами синтеза нитратредуктазы могут быть цитокинины и органические нитросоединения, то есть в растениях возможна индукция синтеза этого фермента под воздействием химических регуляторов [4].

О взаимосвязи окислительного стресса и активности фермента нитратредуктазы в растениях пшеницы очень мало сведений в литературе. Есть информация, что нитратредуктаза может участвовать в образовании оксида азота, который является компонентом сигнальной системы при развитии окислительного стресса в растительной клетке [2].

Цель данного исследования – изучение влияния сортовых особенностей пшеницы, минеральных удобрений и фунгицидов на уровень активности окислительного стресса и антиоксидантной системы растений, а также сопряженности процессов окислительного стресса с активностью главного фермента азотного обмена.

**Методика исследований.** Объектом исследований (2011–2019 гг.) служили сорта озимой мягкой пшеницы Безостая 1, Спартанка и яровой Тулунская 12 (*Triticum aestivum* L.). Исследования проводили как на 8–10-суточных проростках, так и на флаговых листьях растений пшеницы после обработки фунгицидами в фазе колошения. Применяли следующие фунгициды: Тилт 25 % к.э. (пропиконазол) – 0,5 л/га, Байлетон 25 % с.п. (триадимефон) – 0,5 л/га, Фоликур 25 % к.э. (тебуконазол) – 0,5 л/га. Опыт с минеральными удобрениями (аммиачная селитра) включал в себя варианты по действующему веществу: контроль (без удобрений); N35P60K40 с осени + N35 в фазе кущения; N35P60K40 с осени + N35 в фазе кущения + N35 в фазе трубкования [8].

Интенсивность ПОЛ определяли по цветной реакции малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Концентрацию МДА рассчитывали в микромолях на 1 г сырой массы по молярной экстинкции ( $\epsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )

$$C = D/\epsilon Lm,$$

где  $C$  – концентрация МДА, мкМ;  $D$  – оптическая плотность;  $\epsilon$  – коэффициент молярной экстинкции;

$L$  – длина оптического пути (1 см);  $m$  – масса навески.

Учет развития болезней проводили на естественном инфекционном фоне, инокуляцию фитопатогенами не применяли. В лабораторных условиях проростки не заражали, чтобы определить влияние самого фунгицида на процессы ПОЛ и активность фермента нитратредуктазы. Сроки обработки фунгицидами в полевых опытах являются оптимальными для зоны возделывания. Обработка в фазе колошения была направлена на защиту не только листового аппарата, но и колоса от наиболее вредоносного заболевания – фузариоза колоса.

Активность нитратредуктазы определяли колориметрическим методом при длине волны 540 нм по количеству нитритов, образовавшихся из нитратов под действием фермента. Через 30 мин развившуюся окраску колориметрировали на фотоколориметре с зеленым

$$\text{НРА мкМ NO}_2 \text{ г}^{-1}\text{ч}^{-1} = 5a / \text{вНТ},$$

где  $a$  – содержание нитрата в пробирке, мкМ;  $v$  – объем аликвоты, мл;  $H$  – навеска ткани, г;  $T$  – время инкубации, ч [13].

Полученные результаты обрабатывали статистически (на графиках представлены средние арифметические значения и их стандартные отклонения).

**Результаты исследований.** Большой интерес представляет изучение влияния основных элементов интенсивной технологии выращивания озимой пшеницы на физиологические процессы, лежащие в основе продуктивности, иммунных реакций растения и стрессоустойчивости. В табл. 1 и 2 приведены данные изучения влияния минеральных удобрений в комплексе с фунгицидами на уровень окислительного стресса в тканях, по показателям ТБК-активных продуктов (МДА) и НРА в листьях пшеницы. Было установлено, что сорта по-разному реагировали на дозы удобрений.

Озимая пшеница сорта Безостая 1 реагировала на повышение минерального питания снижением содержания МДА (в среднем на 15 %) и повышением активности фермента НР (в среднем на 11 %). Повышению НРА способствовали также сами нитраты (см. табл. 1). Отмеченные изменения положительно отражались на продуктивности растений.

У сорта Спартанка, наоборот, с повышением доз минеральных удобрений происходило накопление

ТБК-активных продуктов (МДА) в тканях растений, при этом НРА снижалась, несмотря на присутствие в почве нитратов (см. табл. 2). Следует отметить, что сорт Спартанка более восприимчив к заболеваниям, чем сорт Безостая 1. Интенсивность поражения листовыми пятнистостями (бурой ржавчиной, мучнистой росой и септориозом) в фазе колошения на сорте Спартанка была в 2 раза сильнее. Развитию заболеваний способствовал также высокий фон минеральных удобрений. Спартанка как более восприимчивый сорт сильнее поражался болезнями на высоком азотном фоне. При заражении фитопатогенными грибами происходит взаимодействие растения-хозяина и паразита. Поражение фитопатогенами вызывает сложные изменения в энергетическом и пластическом обмене растения. В большей степени эти изменения относятся к окислительным процессам, накоплению активных форм кислорода, перекисному окислению липидов и накоплению ТБК-активных продуктов (МДА). В связи с этим на восприимчивом сорте Спартанка с повышением доз минеральных удобрений, прежде всего азотных, наблюдали повышение концентрации ТБК-активных продуктов на 25 % по сравнению с контролем, развитие окислительного стресса и, как следствие, снижение активности фермента нитратредуктазы на 10 % по сравнению с контролем (см. табл. 2).

В технологии выращивания зерновых колосовых культур очень большое значение имеет защита от возбудителей заболеваний. На посевах зерновых развивается целый комплекс патогенов, степень вредности которых зависит от сорта пшеницы, климатических условий, агротехники и других факторов. Сегодня для защиты от болезней на пшенице применяется широкий ассортимент фунгицидов и биостимуляторов. Среди них хорошо себя зарекомендовали препараты из класса триазолов. Их отличительной особенностью является не только защитное и лечебное действие, но и ряд сопутствующих положительных эффектов воздействия на физиологию растения. Среди этих эффектов наиболее известным и изученным является ретардантное действие.

Ретардантное действие триазолов и их производных обусловлено подавлением биосинтеза гормона роста – гиббереллина, что проявляется в укорочении длины побегов и стеблей [17]. Известны также такие эффекты, как увеличение сроков жизнедеятельности и содержания хлорофилла в вегетативных частях растения [11]; повышение устойчивости растения к раз-

Таблица 1

**Влияние доз минеральных удобрений и обработки Байлетоном на активность процессов ПОЛ и НРА в растениях озимой пшеницы сорта Безостая 1, % от контроля**

Вариант	Без обработки			Байлетон 0,5 л/г, на 7-й день после обработки		
	ПОЛ	НРА	масса 1000 зерен, г	ПОЛ	НРА	масса 1000 зерен, г
Контроль	–	–	–	78	126	117
N65P60K40	82	110	118	65	145	124
N125P60K40	88	112	118	70	160	130

Таблица 2

**Влияние доз минеральных удобрений и обработки Байлетоном на активность процессов ПОЛ и НРА в растениях озимой пшеницы сорта Спартанка, % от контроля**

Вариант	Без обработки			Байлетон 0,5 л/г, на 7-й день после обработки		
	ПОЛ	НРА	масса 1000 зерен, г	ПОЛ	НРА	масса 1000 зерен, г
Контроль	–	–	–	86	105	117
N65P60K40	125	90	90	108	110	120
N125P60K40	125	90	90	110	110	120





личным стрессам [15]; повышение содержания белка в зерне; влияние на различные физиологические процессы в растениях [14].

В нашем опыте фунгицид Байлетон (триадимефон) проявил лечебное и антиоксидантное действие. Под влиянием препарата снижалось не только развитие болезней, но и содержание МДА в листьях, при этом со снижением процессов ПОЛ активность НР повышалась (см. табл. 1, 2).

Антиоксидантный эффект препаратов триазольной группы был нами изучен и на других фунгицидах из этого класса: Тилт 25 % к.э. (пропиконазол) 0,5 л/га, Фоликур 25 % к.э. (тебуконазол) 0,5 л/га [13]. На рис. 1 показано влияние обработок фунгицидами на процессы ПОЛ и НРА на сорте яровой пшеницы Тулунская 12.

Все фунгициды проявляли антиоксидантные свойства, т.е. снижали окислительный стресс в тканях листьев растений пшеницы, при этом происходило повышение активности фермента НР [9, 21].

Такая же зависимость между процессами ПОЛ и активностью нитратредуктазы наблюдалась на сорте озимой пшеницы Безостая 1 (рис. 2). Из всех фунгицидов наиболее сильный антиоксидантный эффект проявил Тилт (пропиконазол). Между процессами ПОЛ и НРА была установлена высокая отрицательная корреляционная связь  $r = -83$ .

Подобная сопряженность двух процессов, окислительного стресса и активности фермента, указана в исследованиях теплового стресса у озимой пшеницы [6]. В опыте тепловой стресс сопровождался активацией процессов ПОЛ и снижением активности фермента НР.

Таким образом, активность нитратредуктазы можно использовать не только как показатель оптимизации азотного питания растений, но и как показатель степени устойчивости растений к стрессовым условиям [12].

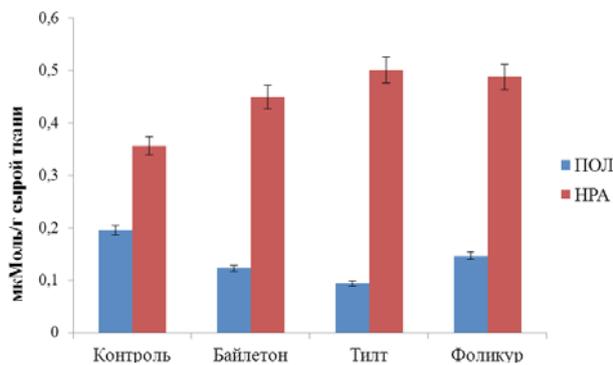


Рис. 1. Интенсивность процессов ПОЛ и НРА после обработки фунгицидами на сорте Тулунская 12

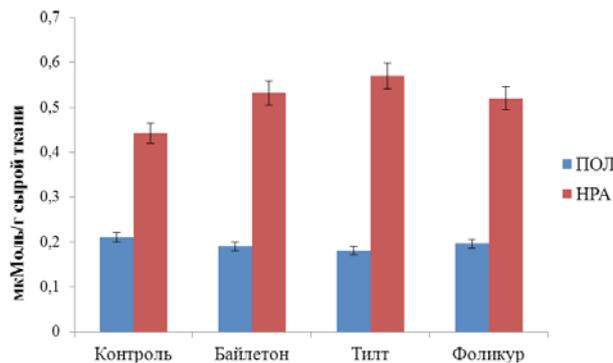


Рис. 2. Интенсивность процессов ПОЛ и НРА после обработки фунгицидами на сорте Безостая 1

Фермент нитратредуктаза тесным образом связан с процессом фотосинтеза и окислительно-восстановительным потенциалом внутри клетки. Его активность зависит от количества восстановленных пиридин нуклеотидов НАДФН в растительной клетке [3].

Эффект от обработок фунгицидами наблюдался и по внешним признакам растений в полевых опытах: листья и колос сохраняли зеленый цвет на 7–10 дней дольше, т.е. продлевалась фотосинтезирующая активность растения.

Имеются сведения, что некоторые триазолы снижают ПОЛ, активируют антиоксидантные ферментативные и неферментативные системы, повышают устойчивость растений к окислительному стрессу, водному дефициту и засухе [18].

**Закключение.** Значительный интерес с практической точки зрения представляет возможность контроля искусственной индукции и модификации детоксицирующих систем, что могло бы обеспечить устойчивость растений к неблагоприятным факторам внешней среды, индуцировать иммунный ответ, осуществлять коррекцию старения и течение других важных физиологических процессов. Как показывают исследования, фунгициды играют роль антиоксидантов, в некоторых случаях обладают способностью задерживать старение, препятствовать развитию заболеваний, повышать продуктивность.

Полученные нами результаты относительно тесной взаимосвязи между процессами ПОЛ и НРА позволяют использовать фунгициды из класса триазолов для повышения устойчивости растений к различным стрессовым факторам, активации антиоксидантной системы в растительных клетках, повышения продуктивности. Они как химические иммунизаторы способны одновременно сдерживать развитие болезней и воздействовать на физиолого-биохимические механизмы, усиливающие сопротивляемость растительных организмов к фитопатогенам [5].

Установленная в процессе исследования высокая корреляционная связь между окислительным стрессом и азотным питанием позволяет регулировать процессы адаптации к стрессам, формирования продуктивности, открывает новые возможности создания экологически безопасных защитных препаратов комплексного действия.

Можно предположить, что производные триазола участвуют также в повышении устойчивости растений к стрессам различной природы, в том числе к неблагоприятным низким или высоким температурам, благодаря своей способности регулировать повреждения в растительных клетках.

Многие вопросы и детали регулирования окислительного стресса, протекания и подавления ОС остаются невыясненными и ждут своего решения. Но уже имеющиеся факты, касающиеся роли окислительных процессов растительной клетки, являются стимулом к дальнейшим исследованиям в этой области.

Полученные результаты исследований помогут повысить эффективность использования удобрений и фунгицидов, оптимизировать азотное питание растений, повысить качество зерна, объективно оценивать сортовые особенности пшеницы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бакаева Н.П., Коржавина Н.Ю. Биохимические показатели качества зерна озимой пшеницы на фоне применения минеральных и органических удобрений // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии имени В.Р. Филиппова. – 2019. – № 1(54). – С. 13–19.
2. Бояршинова А.И., Асафова Е.В. Стрессовые реакции листьев пшеницы на обезвоживание: участие эндогенного NO и эффект нитропруссиды натрия // Физиология растений. – 2011. – Т. 58. – № 6. – С. 1–7.
3. Влияние некоторых фунгицидных препаратов на окислительно-восстановительный обмен растений пшеницы / Р.А. Набеева [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5. – С. 12–18.
4. Галочкина А.А., Бакаева Н.П. Активность нитратредуктазы, содержание азота и белка в листьях яровой пшеницы // Современные проблемы агропромышленного комплекса: материалы 72-й Междунар. науч.-практ. конф. – Кинель: РИО Самарского ГАУ, 2019. – С. 16–19.
5. Жирнокислотный состав проростков озимых и яровых злаков после обработки семян тебуконазолсодержащим препаратом Бункер / А.В. Корсукова [и др.] // Агрохимия. – 2018. – № 11. – С. 70–76.
6. Клименко С.Б., Пешкова А.А., Дорофеев Н.В. Активность нитратредуктазы у озимой пшеницы при тепловом шоке // Журнал стресс-физиологии и биохимии. – 2006. – Т. 2. – № 1. – С. 50–55.
7. Кузнецов Д.А. Влияние минеральных удобрений и норм высева на урожайность и качество зерна яровой пшеницы // Аграрный научный журнал. – 2020. – № 11. – С. 25–29.
8. Манукян И.Р. Влияние элементов интенсивной технологии возделывания озимой пшеницы в предгорной зоне Северной Осетии на развитие болезней, физиологическое состояние и продуктивность растений: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – СПб., 1992. – 28 с.
9. Манукян И.Р., Башмакова Л.Г., Ревина О.Н. Активность фермента нитратредуктазы как метод определения адаптивности яровой пшеницы к пестицидам // Взаимодействие научно-образовательных, промышленных, предпринимательских и административных структур. Правовые и экономические аспекты: сб. ст. науч.-практ. конф. Ч. II. – Новокузнецк, 1999. – С. 13–15.
10. Мерзляк М.Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Сер. Физиология растений. – 1989. – Т. 6. – С. 168.
11. Молекулярные механизмы мембранотропного действия производных 1,2,4-триазола / Т.И. Дитченко [и др.] // Ученые записки. – 2002. – № 1(4). – С. 11–18.
12. Патент 2132609 С1 Российская Федерация, МПК А01Н1/04. Способ оценки селекционного материала озимой пшеницы на адаптивность / Манукян И.Р., Логинова Л.Н., Бекузарова С.А., Доев А.Т. № 98104790/13; заявл. 03.03.1998; опубл. 10.07.1999.
13. Пеккер Е.Г. Методика оценки обеспеченности злаковых культур азотом на основании результатов определения нитратредуктазной активности // Азотный обмен и продуктивность зерновых культур в условиях химизации земледелия Западной Сибири: сб. науч. тр. СИБНИИХИМ. – Новосибирск, 1984. – 26 с.
14. Физиологические эффекты действия на растения фунгицидов триазольной группы / Т.П. Побежимова [и др.] // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2019. – Т. 9. – № 3. – С. 461–476.
15. Юрин В.М., Дитченко Т.И. Механизмы модификации ион-транспортных свойств плазматической мембраны растительной клетки под действием фунгицида пропиконазола // Агрохимия. – 2009. – № 9. – С. 43–53.
16. Bora K.K., Ganesh R., Mathur S.R. Paclobutrazol delayed dark-induced senescence of mung bean leaves. *Biologia, Bratislava, Section Botany*, 2007, Vol. 62, No. 2, P. 185–188.
17. Ergin S., Ozgur M. Effect of uniconazole and gibberellic acid on height control of pansy. 4th International Conference on Agriculture and Animal Science IPCBEE, 2012, Vol. 47, Is. 8, P. 36–40.
18. Korsukova A.V. et al. Tebuconazole regulates fatty acid composition of etiolated winter wheat seedlings // *J. Stress Physiology and Biochemistry*, 2016, Vol. 12, No. 2, P. 72–79.
19. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 2020, Vol. 7, Is. 9, No. 1, P. 405–410.
20. Posmyk M.M., Bailly C., Szafranska K., Jana M., Corbineau F. Antioxidant Enzymes and Isoflavonoids in Chilled Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) // *J. Plant Physiology*, 2005, Vol. 162, P. 403–412.
21. Ozmen A.D., Ozdemi R.F., Turkan I. Effect of paclobutrazol on response of two barley cultivars to salt stress. *Biologia Plantarum* 15, 2003, Vol. 46, No. 2, P. 263–268.

**Манукян Ирина Рафиковна**, канд. биол. наук, старший научный сотрудник, Северо-Кавказский научно-исследовательский институт горного и предгорного сельского хозяйства – филиал Владикавказского научного центра Российской академии наук. Россия.

377607, РСО-Алания, с. Михайловское, ул. Вильямса, 1.  
Тел.: (8672) 23-04-20.

**Ключевые слова:** пшеница; удобрения; фунгицид; нитратредуктаза; антиоксиданты; перекисное окисление липидов.

## PHYSIOLOGICAL ASPECTS OF WHEAT STRESS RESISTANCE

**Manukyan Irina Rafikovna**, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, North Caucasian Research Institute of Mountain and Piedmont Agriculture - branch of the Vladikavkaz Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Russia.

**Keywords:** wheat; fertilizers; fungicide; nitrate reductase. antioxidants; lipid peroxidation.

The article presents the results of long-term studies of physiological processes and oxidative stress occurring in wheat plants under the influence of phytopathogens, mineral fertilizers and fungicides. The criteria for the damaging effect of oxidative stress are the activity of the enzyme nitrate reductase and the concentration of TBK-active products. Normally, a mobile balance is maintained between the processes of lipid peroxidation and the antioxidant system of cell protection. However, under stressful conditions, the ROS content in cells increases rapidly and oxidative stress develops. The resistance of plants to many environmental factors is determined by the ability of the plant to maintain a consistent course

of physiological processes, without causing their significant disruption under stress. The relationship between LPO processes and nitrate reductase activity was observed in all wheat varieties. It was found that the varieties reacted differently to the doses of fertilizers. A high negative correlation  $r = -0.83$  was established between the POL and NRA processes. Many pesticides have additional effects on plants in addition to their main target effect. Fungicides from the triazole class (Byleton, Tilt, Fundazole) were studied. All of them showed antioxidant properties. The strongest antioxidant effect was observed in the fungicide Tilt (propiconazole). The results obtained by us, regarding the close relationship between the processes of POL and NRA, allow us to use fungicides from the triazole class to increase the resistance of plants to various stress factors, activate the antioxidant system in plant cells, and increase productivity. They, as chemical immunizers, are able to simultaneously restrain the development of diseases and affect the physiological and biochemical mechanisms that increase the resistance of plant organisms to phytopathogens and other stress factors.

