Т.Л. Тажибаева

УСТОЙЧИВОСТЬ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР К ЭКОЛОГИЧЕСКИМ СТРЕССАМ

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ – ФАРАБИ

Т.Л. Тажибаева

УСТОЙЧИВОСТЬ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР К ЭКОЛОГИЧЕСКИМ СТРЕССАМ

Монография

Алматы
«Қазақ университеті»
2025

УДК 633.1
ББК 42.112
Т 13

Рекомендована к изданию Ученым советом
(протокол №9 от 3 апреля 2025 г.)
и Редакционно-издательским советом
Казахского национального университета имени аль-Фараби
(протокол №1 от 30 мая 2025 г.)

Рецензенты:
доктор биологических наук, академик НАН РК ***К.Ж. Жамбакин***
доктор биологических наук ***К.К. Богуспаев***

Тажибаева Т.Л.
Т 13 Устойчивость зерновых культур к экологическим стрессам: монография / Т.Л. Тажибаева. – Алматы: Қазақ университеті, 2025. – 152 с.
ISBN 978-601-04-7058-3

В монографии приведен анализ адаптационных механизмов устойчивости зерновых культур, в т.ч. пшеницы и ячменя, к действию экологических стрессов, вызванных низкими температурами, засухой и тяжелыми металлами.

Рекомендован комплексный подход к изучению общей адаптационной способности сельскохозяйственных растений, сочетающий проведение лабораторных и полевых опытов, многомерную математическую статистику для обработки результатов, основанный на определении физиолого-биохимических критериев адаптации, таких как активность пероксидазного комплекса, содержание свободного пролина, а также оценке показателей продуктивности и урожайности в распознавании устойчивых к экологическим стрессам генотипов зерновых культур. Целесообразно использовать потенциал диких сородичей для создания гибридных форм зерновых культур с последующим отбором ценных генотипов, обладающих повышенной устойчивостью к неблагоприятным условиям среды. Предложены способы оценки устойчивости пшеницы к экологическим стрессовым факторам.

Издание предназначено для биологов, экологов, селекционеров, преподавателей и студентов университетов, изучающих вопросы стрессустойчивости растений.

УДК 633.1
ББК 42.112

ISBN 978-601-04-7058-3 © Тажибаева Т.Л., 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 5

1. ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ НА РАСТЕНИЯ 7
1.1. Типология экологических стрессовых факторов 7
1.2. Метаболизм растений в условиях стресса. Понятие об устойчивости растений 11

2. АДАПТАЦИЯ РАСТЕНИЙ К ЭКОЛОГИЧЕСКИМ СТРЕССАМ 20
2.1. Общие представления об адаптации растений 20
2.2. Адаптивный потенциал. Общая адаптационная способность зерновых культур 26

3. ФЕРМЕНТ ПЕРОКСИДАЗА И НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫЙ СТРЕСС 36
3.1. Пероксидаза – «аварийный» фермент при стрессовых воздействиях на растения 36
3.2. Пероксидаза и морозоустойчивость озимой пшеницы 41
3.2.1. Изменение активности пероксидазы и ее форм в листьях озимой пшеницы под влиянием низкотемпературного стресса 41
3.2.2. Изопероксидазы листьев проростков глиадиновыхх биотипов пшеницы Богарная 56 60
3.3. Разработка способов определения устойчивости пшениц к стрессовым факторам на основе активности катодных пероксидаз 63

4. АМИНОКИСЛОТА ПРОЛИН И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ СТРЕССЫ 67
4.1. Роль пролина в обеспечении стресс-устойчивости растений 67

4.2. Пролин проростков озимой пшеницы и устойчивость к низкотемпературному стрессу 73
4.3. Пролин в дифференцировке озимых и яровых форм ячменя 76
4.4. Пролин в диагностике засухоустойчивых линий пшеницы 78
4.5. Пролин в распознавании генотипов пшеницы по устойчивости к тяжелым металлам 81
4.6. Накопление пролина в зерне различных зерновых культур 84
4.7. Пролин и другие показатели в характеристике общей адаптационной способности зерновых культур 91

5. УСТОЙЧИВОСТИ К АБИОТИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ ДИКИХ, КУЛЬТУРНЫХ И ИНТРОГРЕССИВНЫХ ФОРМ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ 101
5.1. Интрогрессивные формы озимой пшеницы 101
5.2. Скрининг диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы по засухоустойчивости 102
5.3. Скрининг диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы по зимо- и морозостойкости 114
5.4. Устойчивости к тяжелым металлам диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы 118
5.5 Систематизация данных по оценке диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы по зимо-, морозостойкости, засухоустойчивости и устойчивости к тяжелым металлам 126

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 129

ЛИТЕРАТУРА 136

ВВЕДЕНИЕ

Глобальные климатические изменения и антропогенные факторы, связанные с нерациональной хозяйственной деятельностью человека, роль которых особенно усилилась со второй половины прошлого и в нынешнем XXI веке, изменили условия произрастания растений на Земле. Существование и выживание растений в значительной степени зависят от их способности приспосабливаться к меняющимся условиям окружающей среды [1-3].

Совокупность условий внешней среды, действующих на растения в процессе их роста и развития, называют экологическими факторами, среди которых особую актуальность для зерновых культур Казахстана имеют низкие и высокие температуры, засуха, засоление и тяжелые металлы.

Продовольственная безопасность и устойчивое развитие нашей страны во многом обеспечивается за счет производства доминирующих зерновых культур – пшеницы и ячменя. Чрезвычайно важно для выращивания зерновых культур, чтобы адаптация к экологическим стрессам абиотического и антропогенного характера сочеталась с общей урожайностью и продуктивностью посевов. Это в значительной мере стимулирует ученых и практиков к проведению исследований по изучению защитно-приспособительных механизмов адаптации пшеницы и ячменя к неблагоприятным факторам внешней среды, что представляет интерес как с точки зрения, понимания общебиологических закономерностей реализации адаптивного потенциала зерновых культур, так и для повышения эффективности селекционного отбора по выявлению доноров с высоким уровнем стресс-устойчивости. Многообразие и сложность факторов внешней среды, действующих на растение в процессе вегетации, создают принципиальные трудности для разработки методов выявления физиолого-биохимических критериев устойчивости зерновых культур.

Изучение физиолого-биохимических механизмов устойчивости растений в зарубежной и отечественной литературе нередко связывают с изменениями фермента пероксидазы и свободного пролина, рассматривая их как разновидности стрессовых, защитных метаболитов клетки в формировании адаптации к неблагоприятным факторам среды. Однако, многие вопросы качественных и

количественных трансформаций пероксидазного комплекса и содержания пролина у зерновых культур, переживающих различные экологические стрессы, еще недостаточно исследованы. Интерес представляют работы по вовлечению дикорастущих видов в качестве доноров устойчивости к неблагоприятным условиям среды, обогащению отечественной коллекции зерновых культур гибридными комбинациями с дикорастущими сородичами.

В связи с этим, настоящие исследования направлены на: поиск физиолого-биохимических критериев адаптационной способности зерновых культур на основе изучения активности пероксидазы и ее форм, накопления свободного пролина; выявление генотипов, в т.ч. обогащенных гермоплазмой диких сородичей, сочетающих устойчивость к экологическим стрессам с высокой продуктивностью.

В монографии представлены результаты многолетних исследований по изучению устойчивости зерновых культур, в основном пшеницы и ячменя, проведенные на лабораторной и опытно-производственной базе Казахского научно-исследовательского института земледелия и растениеводства (КазНИИЗиР, раннее КазНИИЗ) и в Казахском национальном университете имени аль-Фараби (КазНУ имени аль-Фараби).

В основу положены экспериментальные работы, выполненные по научно-техническим проектам Министерства образования и науки (ныне Министерство науки и высшего образования) Республики Казахстан: № госрегистрации 3-2-3б511 (156)-111 «Физиолого-генетические критерии общей адаптационной способности ячменя диких, культурных и гибридных форм», 2003-2005 (рук. Абугалиева А.И.); № госрегистрации 0115РК00377 «Физиолого-биохимические критерии устойчивости к абиотическим факторам среды генотипов озимой пшеницы диких, культурных и интрогрессивных форм», 2015-2017 (рук. Тажибаева Т.Л.), а также результаты работ по заданиям Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан.

1. ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ НА РАСТЕНИЯ

1.1. Типология экологических стрессовых факторов

Теоретическим и практическим аспектам влияния экологических факторов внешней среды на растения, в т.ч. зерновые культуры, посвящены работы многих исследователей во всем мире. Наряду с классическими работами J.Levitt (1972), П. Хочачка Дж. Сомеро (1977), И.И. Туманова (1979), П. А. Генкель (1982), Д.М. Гродзинского (1983), Ф.А. Полимбетовой (1986), А.А. Жученко (1988), Г.В. Удовенко (1995), H.R. Lerner (1999), И. А. Тарчевского (2001), Т.И. Труновой (2007), S. Shabala (2012) [4-15], заслуживают интерес обзоры и коллективные монографии последних лет под редакцией Sh. H. Wani (2017), M.A. Ahangere e. a. (2017), R. Szyma´nska (2021), M.A. Hassan e. a. (2021), L. Mareri (2022), M. Nawaz et al. (2023), А.Ф. Титова и соавторов (2023), R. Munns, A. H. Millar (2023), S.H. Shah e. a. (2024) и других [1, 2, 16-22]. Растения обладают способностью успешно осуществлять жизнедеятельность в определенной норме колебаний внешней среды.

Влияние экологических факторов на растения многообразно – одни действуют более сильно, другие почти незаметно. Действие каждого из факторов зависит от его интенсивности и свойств самого организма. При различном количественном выражении фактор может быть благоприятным (оптимальное действие) или неблагоприятным, когда его количество меньше оптимального (в минимуме) или больше такового (в максимуме). Таким образом, действие экологического фактора выражается одновершинной биологической кривой с точками минимума, оптимума и максимума. Растение способно полноценно функционировать только при наборе факторов, которые находятся в так называемом «оптимуме».

Способность к защите от действия неблагоприятных экологических факторов – обязательное свойство любого живого организма, включая зерновые культуры. Эта функция появилась одновременно с возникновением первых живых организмов и в ходе дальнейшей

эволюции развивалась и совершенствовалась, что объясняется учением Ч. Дарвина об условиях внешней среды, выступающей в качестве движущей силы эволюции [цит. по 23].

Известно, что приспособленность онтогенеза растений к условиям среды является результатом их эволюционного развития - изменчивости, наследственности и отбора. В процессе эволюции на протяжении филогенеза каждого вида растений выработались определенные потребности индивидуума к условиям существования и приспособленность к занимаемой им экологической нише.

В силу прикрепленного образа жизни растения лишены возможно избегать воздействия на них экологических факторов за счет перемещения в пространстве, как это делают животные. Следовательно, выживание растений будет напрямую зависеть от их способности быстро и эффективно реализовывать собственный адаптивный потенциал, обусловленный их генотипом, приспосабливая свою функциональную организацию и клеточный метаболизм к меняющимся условиям среды обитания. Способность растений выживать в условиях экологических стрессов – это залог их более продолжительной жизни и возможность более полно обеспечить свое воспроизводство [20].

В наиболее общем виде, экологические факторы, действующие на растения, подразделяют на три группы: абиотические, биотические и антропогенные.

Абиотические факторы – компоненты неживой природы, действующие на растения, например, высокие и низкие температуры, дефицит или избыток воды, свет и другие электромагнитные излучения, давление, состав воздуха, соленость воды и почвы, дефицит питательных веществ и др.

Как правило, абиотические факторы подразделяют на физические и химические, либо именуют факторами физико-химической природы. Один из основоположников учения о влиянии стрессовых факторов окружающей среды на растения J. Levitt (1972) предложил следующую типологию (рис. 1) [4].

По ряду экологических классификаций к абиотическим факторам, влияющим на произрастание растений, относятся: климатические – свет, тепло, воздух (его состав и движение), влага (включая осадки в разных формах, влажность почвы, влажность воздуха); эдафические (или почвенно-грунтовые) – механический и

химический состав почв, их физические свойства; и топографические – условия рельефа [24].

Рисунок 1. Типология экологических стрессов по J. Levitt (1972) [4]

Биотические факторы – компоненты живой природы, воздействие на растения других живых существ или продуктов их жизнедеятельности, например, микроорганизмы, паразиты, хищники и влияние других растений.

Антропогенные факторы – формы деятельности человека, приводящие к изменению природы как среды обитания других видов, например, изменение природных ландшафтов, загрязнение окружающей среды отходами промышленного производства и транспорта, последнее нередко приводит к увеличению тяжелых металлов (ТМ) в окружающей среде. Выделение ТМ в отдельную антропогенную группу произошло сравнительно недавно, акцентируя внимание на возрастающем влиянии нерациональной деятельности человека на окружающую среду. Поэтому вполне справедливо, что многие исследователи относят ТМ к абиотическим факторам антропогенной природы [1, 4, 25].

Экологический фактор, оказывающий неблагоприятное воздействие на рост и развитие растения, называют стрессором, а реакцию организма на любые отклонения от нормы – стрессом.

Термин «стресс» (от англ. «stress» – напряжение) предложил в 1936 году канадский ученый-физиолог Ганс Селье для описания реакции любого организма на какой-либо неблагоприятный фактор или воздействие, впоследствии получив Нобелевскую премию за предложенную им теорию стресса [26].

По Селье, стресс – это совокупность всех неспецифических изменений, возникающих в живом организме под влиянием любых сильных воздействий (стрессоров), включающих перестройку его защитных сил, мобилизующих обмен веществ. Согласно его теории, стресс, как реакция организма животных и человека на неблагоприятное воздействие, проходит три фазы: I) тревога, II) резистентность (адаптация) и III) истощение (рис. 2). Если при сильных воздействиях последняя фаза наступает и развивается быстро, то организм погибает. В дальнейшем такие фазы стресса были названы «триадой» Селье.

Перенос теории стресса на растительные объекты требует определенной корректировки. У растений нет ни нервной системы, ни тех гормонов, которые участвуют в стрессовых реакциях у животных. Поэтому применительно к растениям 1-я фаза стрессовой реакции не может быть названа фазой тревоги. Для растений характерны следующие три фазы: I) первичная стрессовая реакция, II) адаптация, III) истощение ресурсов надежности (рис. 2).

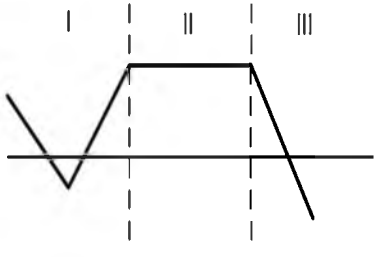


Рисунок 2. Три фазы стресса по Г. Селье [26]

В первой фазе происходят отклонения в физиолого-биохимических процессах, растение проявляет как симптомы повреждения, так и защитные реакции, которые направлены на устранение повреждений. В случае, если стрессовое воздействие слишком велико, растение может погибнуть в этой фазе развития стресса. Если растение уцелело, наступает вторая фаза, в которой рас-

тение либо приспосабливается к новым условиям, либо повреждения в нем усиливаются. Закономерностью является то, что при медленном развитии неблагоприятных условий растения к ним легче приспосабливаются. Когда фаза адаптации заканчивается, растения при новых сложившихся условиях нормально вегетируют (но при пониженном общем уровне процессов). В третьей фазе, фазе повреждения, в растении подавляются основные жизнеобеспечивающие реакции, если уровень стресса превышает пороговое значение, растение погибает. При прекращении действия стресс-факторов и нормализации внешних условий включаются процессы восстановления [25]. Интенсивность или доза стрессора, вызывающая гибель организма, называется летальной и характеризуется $ЛД_{50}$, т.е. интенсивностью действующего фактора, при котором погибает половина растений [27].

В природе, как правило, стрессоры действуют в комплексе. Так, низкой температуре сопутствует слабая освещенность, повышенная температура и интенсивная световая инсоляция сопровождаются засухой; при затоплении наступает кислородная недостаточность и интоксикация ядовитыми соединениями и т.д.

1.2. Метаболизм растений в условиях стресса. Понятие об устойчивости растений

Наблюдаемый при стрессе комплекс метаболических перестроек у растений П. А. Генкель назвал фитострессом [7].

В работе M. Khalid et al. (2023) неблагоприятные воздействия абиотических стрессов на растения имеют много общих проявлений и представлены в виде схемы (рис. 3) [28].

Фитостресс вызывает глубокие изменения на всех уровнях организации растения: клеточном, организменном и популяционном.

Проявление стресса на клеточном уровне характеризуется: повышением проницаемости и деполяризацией мембран, повышением активности H^+-помпы плазмалеммы, изменением вязкости цитоплазмы, выходом ионов Ca^{2+} в цитоплазму; сдвигом pH цитоплазмы в кислую сторону; возрастанием активных форм кислорода (АФК) и гидролитических процессов; ускоренной тратой АТФ; торможением физиологических и метаболических процессов [29, 30].

Рисунок 3. Неблагоприятные воздействия абиотических стрессов на растения по M. Khalid et al.(2023) [28]

На этом фоне наблюдается увеличение содержания в цитоплазме простых углеводов, пролина, и других осмолитов, стабилизирующих физико-химические свойства цитоплазмы, усиление синтеза этилена и абсцизовой кислоты (АБК), возрастание

активности ряда ферментов, в т.ч. пероксидазы, каталазы [29-32]. Перечисленные и некоторые другие ответные реакции растений наблюдаются при действии любых стрессоров и рассматриваются как неспецифические. Они взаимосвязаны, развиваются как каскадные процессы и обеспечивают защиту внутриклеточных структур от неблагоприятных изменений.

Наряду с неспецифическим эффектом экологические стрессоры оказывают специфическое воздействие. Особое значение имеет синтез новых для клетки стрессовых белков, изоформ ферментов, т.е. включение новых генных локусов, не задействованных ранее в оптимальных для организма условиях существования [17, 18, 33].

Например, у растений, испытывающих влияние высоких температур, выявлены белки теплового шока (БТШ), которые интенсивно связываются с денатурирующими белками и поддерживают поврежденные белки в состоянии, способном к последующему восстановлению [34].

БТШ присутствуют в цитоплазме в комплексе со специальным транскрипционным фактором HsFs, для которого проведен геномный анализ у растений баклажана и установлено свыше 20 генов его кодирующих. Установлено, что факторы теплового шока реагировали на холод, жару, засоление и засуху, что указывает на решающую роль HsFs в повышении толерантности к различным абиотическим стрессам [35].

На организменном уровне к клеточным механизмам защиты дополняются новые, отражающие взаимодействие органов в це-лом растении, усиливается конкуренция между органами за физио-логически активные вещества и трофические факторы, выражающиеся в силе их аттрагирующего действия. Например, редукция заложенных ранее плодоэлементов в колосе зерновых или опадение нижних листьев способствуют направлению питательных веществ в молодые органы, замене поврежденных частей и органов растения, сохранению более сильных и развитых зерновок.

В процессах, обеспечивающих защиту и репарацию при стрессе, участвуют все имеющиеся системы регуляции растений (мембранная, ферментная, генетическая, гормональная, трофическая, электрофизиологическая) [30].

Изменения в метаболизме, физиологических функциях и ростовых процессах при экологических стрессах базируются на изменениях в экспрессии генов. Распознавание стрессора приводит к активации пути передачи сигнала, который поступает в геном, индуцируя или подавляя синтез тех или иных белков. Связанные с экспрессией генов ответные реакции клеток на действие стрессора интегрируются в ответ целого растения, который выражается, например, в ингибировании роста и развития растения и одновременно в повышении его устойчивости к действию стрессора [17, 36]. Известно, что в основе всех форм внутриклеточной регуляции лежит принцип «узнавания рецептором» – белковой молекулой специфического для нее фактора, в результате чего изменяется ее конфигурация. Существует три основных типа рецепторов, интегрированных во внешнюю клеточную мембрану: сопряженные с G-белками; ассоциированные с ферментами; интегральные мембранные белки действующие как ионные каналы. Передача молекулярного сигнала гормональной природы осуществляется гормон-связывающими белками, которые могут быть локализованы на мембране, в ядре и цитоплазме, например аденилатциклазная и Ca^{2+}-кальмодулиновые системы. Соединяясь с гормоном, эти гормон-связывающие белки активизируются и могут влиять на различные геномные, мембранные и ферментативные эффекторы или действовать опосредованно через вторичные мессенджеры. Таким образом, происходит активация многочисленных ферментативных процессов, например, пероксидаз [37], сигнальных метаболитов – свободного пролина и других [38]. В передаче сигналов принимают участие также лектины, имеющие точки специфического связывания с сахарами, например, гликопротеинов клеточных мембран.

Генетическая регуляция включает несколько уровней клеточного ответа через: транскрипцию – регулируется собственно транскрипция, последующий процессинг и деградация предшественника иРНК; трансляцию – регулируется собственно синтез белка, его последующий процессинг либо деградация предшественника или самого белка после завершения процессинга; уровень зрелых белков – в процессах их фосфорилирования – дефосфорилирования, сдвигах каталитической активности под действием вторичных мессенджеров и др.

Гормональная регуляция осуществляется посредством снижения уровня гормонов-стимуляторов и накопление ингибиторов роста при стрессе, таких как АБК, этилен, жасмоновая кислота. Это имеет важное адаптивное значение, поскольку приводит к снижению интенсивности метаболизма, остановке деления и роста клеток, переходу организма в состояние покоя. В результате экономнее расходуются энергетические запасы, и растение получает больше возможностей направить их на поддержание структур клетки [36, 39]. Механизмы таких процессов более подробно изложены в работах [2, 13, 16].

Согласно концепции И.А. Тарчевского [13] продукты катаболизма, возникающие при стрессе, являются регуляторами синтетических процессов в клетке. К ним относятся: продукты деградации биополимеров (олигонуклеотиды, олигопептиды, олиго – и моносахара), продукты метаболизма липидов (некоторые жирные кислоты), а также аминокислоты, фенольные соединения, ряд органических кислот (янтарная и травматиновая кислоты), продукты катаболизма фитогормонов и др. Продукты катаболизма оказывают как активирующее, так и ингибирующее действие. Снижение интенсивности катаболических процессов уменьшает последствия стресса.

На популяционном уровне в стрессовую реакцию включается естественный (природные условия) и/или искусственный (селекционный процесс) отбор. Уровень устойчивости популяции (сорта) к тому или иному фактору или группе факторов определяется устойчивостью составляющих популяцию индивидуумов (биотипов). Наиболее устойчивые сорта имеют в своем составе ряд биотипов, обеспечивающих хорошую продуктивность сорта даже в неблагоприятных условиях. В условиях длительного и сильного стресса в природных условиях или в селекционном процессе на провокационных фонах гибнут те растения, у которых более узкая генетически обусловленная норма реакции на данный экстремальный фактор. В результате семенное потомство образуют лишь генетически более устойчивые растения и общий уровень устойчивости в популяции возрастает [23, 40].

Обзор стратегий по устойчивости растений к действию экологических факторов, проведенный в работе M. Nawaz et al. (2023), позволил проиллюстрировать изменения в их жизнедеятельности

и обозначить механизмы стресс – защиты (рис. 4) [2]. Сложность реакций растений может дополнительно зависеть от продолжительности и интенсивности стрессора, генотипа растения, комбинации различных стрессов, типа подвергаемой воздействию ткани и клеток, а также стадии развития, на которой растения воспринимают стресс [1]. На каждой стадии развития способность растений к приспособлению к неблагоприятным условиям (низкая температура, засуха, действие ТМ или засоление почвы) выражена в разной степени. Она обусловлена быстротой и глубиной изменения метаболических реакций без нарушения согласованности между отдельными функциями растения, благодаря чему сохраняется единство организма и среды, обеспечивающее выживание растений в стрессовых условиях.

Сила стресса зависит от скорости развития неблагоприятной для растения ситуации и уровня вызывающего стресс фактора. При медленном развитии неблагоприятных условий растение лучше приспосабливается к ним, чем при кратковременном, но сильном действии. В первом случае, как правило, в большей степени проявляются специфические механизмы устойчивости, во втором – неспецифические [25].

Способность растения переносить действие неблагоприятных факторов и давать в таких условиях потомство называется устойчивостью или стресс-толерантностью (лат. tolerantia – терпение). Как правило, при этом требуется уточнение, в отношении какого фактора устойчиво растение.

В биологическом смысле под устойчивостью понимают способность растения переносить экстремальные условия действия какого-либо экологического фактора с сохранением активной жизнедеятельности и способности к размножению.

Нередко у устойчивых растений происходит снижение продуктивности. Поэтому используют другое понятие «агрономичес-кая устойчивость» – способность сельскохозяйственных растений переносить неблагоприятные условия без снижения урожай-ности.

В эколого-физиологических исследованиях различают также «толерантность» и «резистентность» организма по отношению к факторам среды.

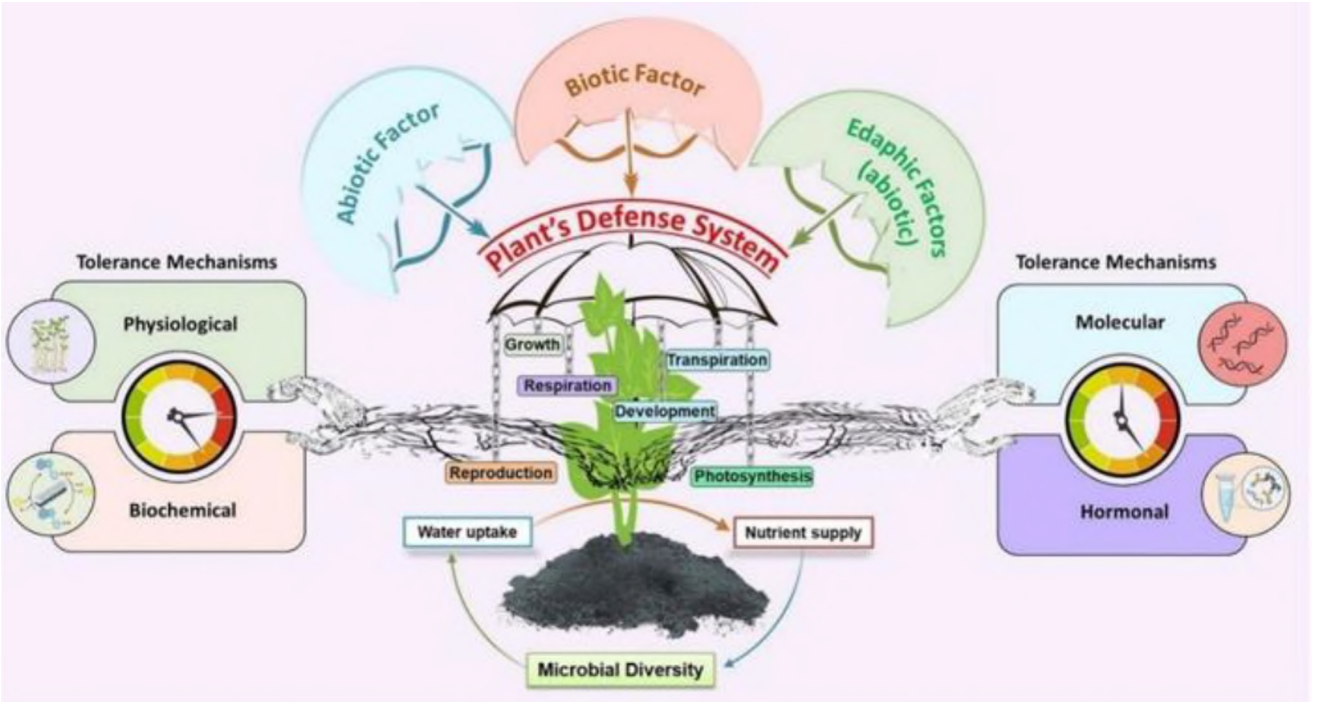


Рисунок 4. Влияние экологических стрессов на жизнедеятельность растений и формирование механизмов стресс- защиты по M. Nawaz et al. (2023) [2]

Организм способен жить в определенных условиях внешней среды, когда экологические факторы имеют пороговые - минимальные и максимальные значения, за пределами которых организм погибает. Они определяют нижнюю и верхнюю границы его толерантной зоны обусловленную генотипом. Организм, как правило, не использует все свои потенциальные возможности и функционирует в зоне более узкой, чем это позволяет генотип. За пределами зоны толерантности находится зона резистент-ности – зона действия летальных уровней воздействия [36, 41].

Оценивая влияние экологических стрессовых факторов на метаболизм растений, в литературе рассматриваются «эластичный» и «пластичный» типы устойчивости.

Эластичная устойчивость является мерой способности организма предупреждать обратимые физико-химические изменения при действии стрессора.

Пластичная устойчивость – мера способности организма предупреждать необратимое (пластичное) напряжение, т.е. физико-химические повреждения [36, 42].

В зависимости от влияния основного неблагоприятного фактора среды на растение различают следующие виды устойчивости (рис. 5).

В целом, стресс у растений представляет собой многокомпонентный, суммированный ответ организма на неблагоприятное воздействие, реализуемый в проявлении того или иного вида устойчивости.

Морозоустойчивость – устойчивость к низким отрицательным температурам

Зимостойкость – устойчивость к комплексу невзгод перезимовки (низкие положительные и отрицательные температуры, заморозкоустойчивость, вымокание, выпревание , ледяная корка)

Холодоустойчивость – устойчивость к пониженным положительным температурам и кратковременным заморозкам, не вызывающим замерзания растений

Жароустойчивость – устойчивость к перегреву, то есть к повышенным температурам

Засухоустойчивость – устойчивость к действию обезвоживания (часто совмещается с устойчивостью к перегреву)

Устойчивость к переувлажнению почвы и к полеганию, зависящая от устойчивости к недостатку кислорода в почве

Солеустойчивость – устойчивость к избытку растворимых солей в почве

Устойчивость в тяжелым металлам

Газо- и пылеустойчивость – устойчивость к газообразным и пылевидным выбросам промышленных предприятий

Радиоустойчивость – устойчивость к действию радиоактивных излучений

Иммунитет – устойчивость к патогенным микроорганизмам и другие виды устойчивости

Рисунок 5. Виды устойчивости растений

2. АДАПТАЦИЯ РАСТЕНИЙ К ЭКОЛОГИЧЕСКИМ СТРЕССАМ

2.1. Общие представления об адаптации растений

Важную роль в устойчивости растений к действию стрессоров играет адаптация (от лат. *adaptatio* – приспособление). Именно, адаптация обуславливает устойчивость растения к действию определенного экологического фактора.

В классическом понимании адаптация – генетически детерминированный процесс формирования защитных систем, обеспечивающих повышение устойчивости и протекание онтогенеза растений в неблагоприятных для него условиях [43].

Условия окружающей среды, в которых обитают растения, весьма разнообразны. Соответственно многообразны и пути адаптации биологической системы растений в изменяющихся условиях существования. Чем лучше организм адаптирован к какому-то фактору, тем он устойчивее к его колебаниям. По мнению П. Хочачко, Д. Сомеро (1988) адаптация включает различные механизмы, способствующие повышению устойчивости и выживанию конкретного вида: биохимические, физиологические, генетические, морфо - анатомические и др. [5].

Механизмы биологической адаптации растений можно сгруппировать следующим образом (рис. 6).

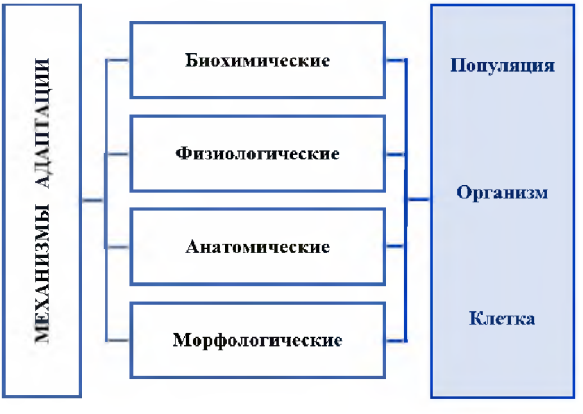


Рисунок 6. Механизмы биологической адаптации

В этом контексте справедлива трактовка адаптации, представляющая ее как совокупность морфологических, физиологических и биохимических приспособительных реакций, обеспечивающих возможность видоспецифического выживания растений при действии вертикальных и горизонтальных биотических связей, а также неблагоприятных для данного вида условий среды [24].

Все адаптации можно условно разделить на два типа: пассивная и активная.

Пассивная адаптация – «уход» от повреждающего действия стрессора или сосуществование с ним, что имеет принципиальное значение для растений, поскольку, в отличие от животных, они не способны убежать или спрятаться от действия экстремального фактора (переход в состояние покоя, замедление метаболизма, процессов роста и развития, способность растений изолировать «агрессивные» соединения, например, соли ТМ в вакуолях, в стареющих органах и тканях, т.е. сосуществовать с ними) [16, 36, 44]. Такая адаптация обуславливает перенесение растениями неблагоприятных условий в состоянии покоя или криптобиоза пассивно (зимующие растения, например озимые злаки, пойкилотермные виды).

Активная адаптация – формирование защитных механизмов, как обязательных условий выживания, включающих индукцию синтеза ферментов с новыми свойствами или новых белков, обеспечивающих защиту клетки и протекание метаболизма в ранее непригодных условиях. Активная адаптация сопряжена с затратой энергии, а ее конечным результатом является расширение экологических границ толерантности. Она обеспечивает перенесение неблагоприятного периода растением в состоянии интенсивной жизнедеятельности (большинство видов высших споровых и цветковых растений) [2, 30].

Данные рассуждения позволяют отобразить типы и пути адаптации растений к экологическим стрессорам на рисунке 7.

Близок к пониманию адаптации другой термин «гомеостаз» – способность организма сохранять внутреннее постоянство под действием неблагоприятных факторов. Различают высокий гомеостаз – у устойчивых растений и низкий – у неустойчивых.

Термин «гомеостаз» был введен W.B. Cannon (1929) и означает тенденцию системы (индивида, процесса) к сохранению относительной динамической сбалансированности, т.е. постоянства, восстановлению ее с помощью собственных регуляторных механизмов в случае нарушения [цит. по 10]. Сущность гомеостаза заключается в буферности организма, возможности растений переключать метаболические пути при изменении условий среды с основных на второстепенные или альтернативные (альтернативные пути дыхания, фотосинтеза, синтез различных веществ, образование изоферментов) [23].

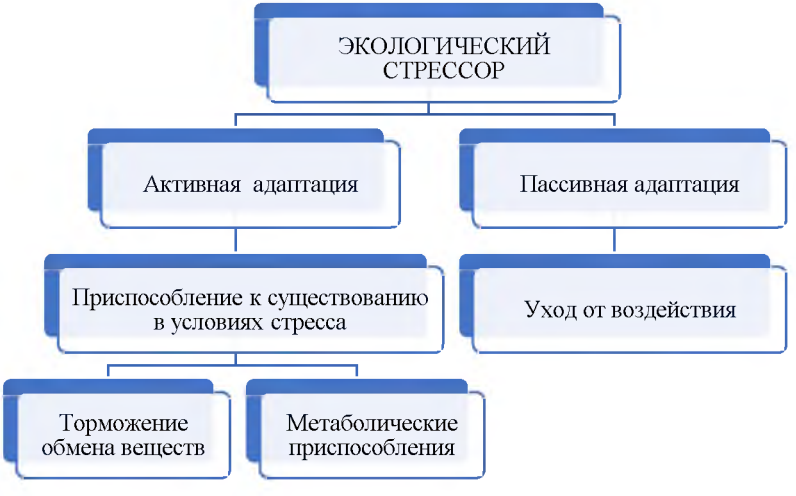


Рисунок 7. Типы и пути адаптации растений к экологическим стрессорам

Выбор растением стратегии адаптации зависит от многих условий, ключевым - является время, предоставляемое организму для ответа. К основным стратегиям адаптации относятся: эволюционные, онтогенетические и срочные.

Эволюционные адаптации – это адаптации, затрагивающие филогенез вида и возникающие в ходе эволюционного процесса на основе генетических мутаций, отбора и передающиеся по наследству. Результатом таких адаптаций является оптимальное встраивание организма в среду обитания. Системы выживания, сформированные в процессе эволюции, наиболее надежны. Они,

как правило, функционируют в течение всего онтогенеза в стрессорных и оптимальных условиях. Формирование такого рода адаптаций требует достаточно много времени, поэтому их называют долговременными адаптациями.

Однако изменения условий среды, как правило, являются слишком быстрыми для возникновения эволюционных приспособлений. В этих случаях растения используют не постоянные, а индуцируемые стрессором защитные механизмы, формирование которых генетически детерминировано, например, изменение дифференциальной экспрессии генов [36, 17].

Онтогенетические адаптации – способность организмов приспосабливаться в своем индивидуальном развитии, выживать в изменяющихся экологических условиях, включают генотипическую и фенотипическую составляющие.

Генетические адаптации – наследственно детерминированный отбор изменений генотипа с повышенной приспособленностью к измененным условиям среды, обусловленный мутагенезом. При фенотипической адаптации изменчивость ограничена нормой реакции, определяемой стабильным генотипом.

В условиях длительного и сильного стресса гибнут те индивидуумы, у которых норма реакции на данный экстремальный фактор ограничена узкими пределами. Эти растения элиминируются из популяции, а семенное потомство дают генетически более устойчивые растения, тем самым возрастает общий уровень устойчивости в популяции. Следовательно, на популяционном уровне в стрессовую реакцию включается дополнительный фактор – отбор, приводящий к появлению более приспособленных организмов и новых видов. Предпосылкой к этому механизму служит внутрипопуляционная вариабельность устойчивости к тому или иному фактору, или группе факторов [23, 44, 45]. Например, работами В.Г. Конарева, А.А. Созинова, А.И. Абугалиевой и других ученых показан внутрисортовой полиморфизм по запасным белкам – глиадинам и глютенинам, что обуславливает различную норму реакции типичных и других биотипов пшеницы на факторы внешней среды, а также в связи с показателями качества зерна [46-48].

В основе срочных адаптаций лежат образование и функционирование шоковых защитных систем, которые происходят при

быстрых и интенсивных изменениях экологических факторов (система теплового шока, которая образуется в ответ на быстрое повышение температуры; или SOS-система репарации, сигналом для запуска которой является повреждение ДНК). Эти системы обеспечивают лишь кратковременное выживание при повреждающем действии фактора, тем самым создаются условия для формирования более надежных долговременных механизмов адаптации [44, 36].

Таким образом, адаптация может быть стабильной, закрепляясь в процессе эволюции в ряде поколений, или нестабильной, зависящей от стадии развития растений и факторов окружающей среды.

Адаптация, которая приводит к увеличению пластичной устойчивости растений, например, сортов – популяций зерновых культур, называется «resistance adaptation» – резистентная адаптация к экстремальным воздействиям среды. Она предохраняет устойчивые генотипы от повреждения стрессором и вызывает повреждения у неадаптированных. Такая адаптация по мнению S.H. Shah et al. (2024) подразумевает устойчивость самых различных видов растений к низкотемпературному стрессу [22]. Способность растений жить, расти и размножаться в присутствии стрессового фактора путем смягчения его действия названа «capacity adaptation» – адаптация к умеренным воздействиям фактора среды и развитие механизмов смягчения. Оба пути адаптации включают устойчивость к стрессу, с одной стороны, к пластичному напряжению, а с другой, – к эластичному.

В соответствии с этим выделяют приспособления к умеренным воздействиям, т.е. зону толерантности, и адаптации к экстремальным воздействия, т.е. зону резистентности. Именно в пределах зоны толерантности работают механизмы физиологической адаптации, способствующие проявлению потенциальных возможностей генотипа. В зоне резистентности организм работает не на нормализацию метаболизма, а на репарацию повреждения и увеличение времени жизни клеток при экстремальных изменениях условий среды [2, 36].

Кроме понятия адаптация, есть еще понятие «акклимация», которое отражает ответные реакции, позволяющие растениям приспосабливаться к новым стрессовым условиям, что, по сути, и есть процесс закаливания, например, к низкотемпературному

стрессу [9]. Некоторые авторы помимо термина «акклимация» используют понятие «акклиматизация» – адаптивный процесс, при котором организм приспосабливается к изменению нескольких параметров окружающей естественной среды, в то время как акклимация – это приспособление, как правило, наблюдаемое в лабораторных условиях, где изменяется только один контролируемый параметр [36, 44].

В обзорной статье R. Munns и A.H. Millar (2023) представлены семь адаптивных способностей, которые позволяют растениям, в частности, злаковым культурам, реагировать на абиотические стрессы и продолжать расти, хотя и с меньшей скоростью, чтобы достичь продуктивного урожая (рис. 8) [21].

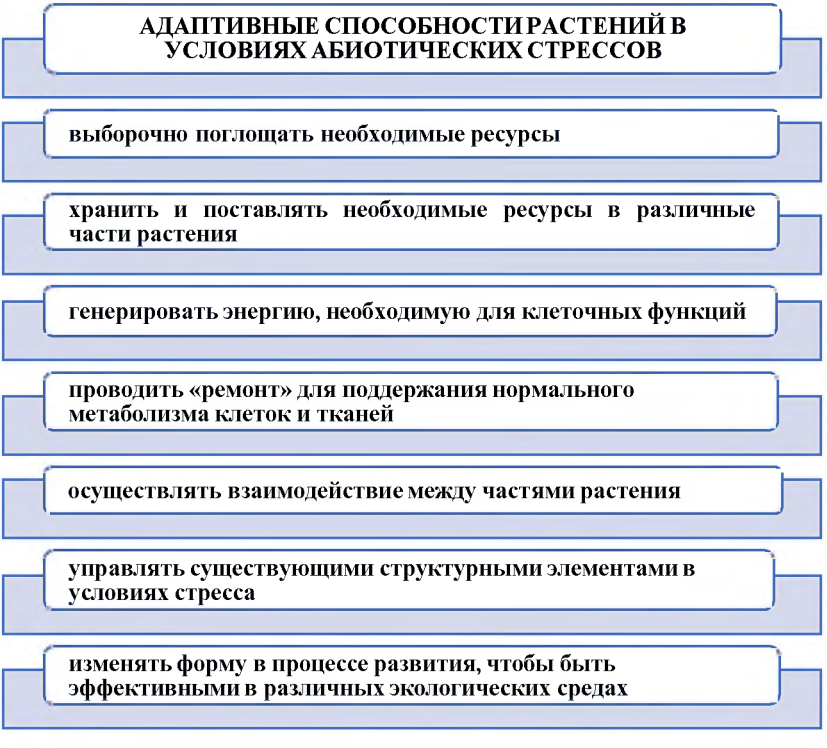


Рисунок 8. Адаптивные способности растений, в т.ч. зерновых культур, в условиях абиотических стрессов по R. Munns и A. H. Millar (2023) [21]

2.2. Адаптивный потенциал. Общая адаптационная способность зерновых культур

Фундаментальный труд А.А. Жученко «Адаптивный потенциал культурных растений» (1988), основанный на анализе большого объёма литературных и собственных исследований, посвящен изучению вопросов онтогенетической адаптации к абиотическим и биотическим стрессорам, генотипической изменчивости на примере функционирования рекомбинантной системы, а также взаимосвязи потенциальной продуктивности и экологической устойчивости сортов зерновых культур. По мнению ученого для свойств адаптивности (приспособленности) и процесса адаптации (приспособляемости) характерно диалектическое единство таких противоположностей, как изменчивость и стабильность, гибкость и устойчивость, дифференцированность и функциональная целостность как отдельных компонентов, как и всей системы растений [10]. Отсюда и широкий спектр понятий (терминов), применяемых для обозначения различных сторон и уровней адаптации растений в природе: «пластичность» или «стабильность», «гомеостаз», «буферность», «канализация» и др.

Адаптивный потенциал – это наиболее емкое, интегральное понятие, под которым понимается способность растений к выживанию, воспроизведению, саморазвитию и саморегуляции в постоянно изменяющихся условиях внешней среды «за счет взаимосвязанного функционирования генетических программ адаптации: онтогенетической или индивидуальной и филогенетической или популяционной». Дискретно-системный подход к анализу адаптивного потенциала растений позволяет более реалистично оценивать характер действия факторов внешней среды, выступающих не только в роли «сортировщиков» генотипов по признакам онтогенетической адаптации, но и влияющих прямо или косвенно на генотипическую изменчивость популяции [10, 45]. Уровень онтогенетической адаптации обеспечивается, в большей мере, модификационной изменчивостью индивида, а филогенетической – генотипической изменчивостью и наследуемостью признаков.

Заложенные академиком А.А. Жученко принципы изучения адаптивного потенциала и нового направления в науке – экологической генетики растений, реализуются в трудах его последователей и учеников [49].

В литературе термин «адаптивный потенциал» нередко заменяется общей адаптационной способностью (ОАС), т.е. рассматривается реальная, практическая реализация такого потенциала у сельскохозяйственных растений.

Иными словами, знаменитый принцип Н.И. Вавилова «генотип доминирует над средой» справедлив для зерновых культур, имеющих высокий уровень проявления адаптивного потенциала в реальных, практических условиях существования, что характеризуется их ОАС [50]. Такие растения должны обладать комплексом хозяйственно-полезных признаков и проявлять устойчивость к действию абиотических, биотических и антропогенных факторов внешней среды.

Резюмируя мнения различных авторов [45, 51, 52], отметим существование широкого диапазона амплитуд фенотипической и генотипической адаптивности в обеспечении генотип-средовых отношений современных сортов-популяций зерновых культур в изменяющихся условиях среды и по годам выращивания. При этом, рассматривается стабильность и популяционная буферность как отдельных морфологических, физиологических показателей, например, устойчивость к абиотическим и биотическим стрессовым факторам, антропогенным воздействиям, так и результирующих показателей экологической пластичности - продуктивности и урожайности.

Для обозначения способности системы давать определенный конечный продукт (стандартный фенотип, стабильный урожай), несмотря на вариабельность условий развития, т.е. вопреки генетическим и экологическим нарушениям, C.H.Waddington (1957) [53] ввел понятие «канализация». Предпосылкой для этого должно быть наличие генотипов с благоприятной нормой реакции, основу которых составляют гомеостатические реакции.

ОАС и гомеостаз тесно взаимосвязаны. Интерпретируя определение «гомеостаз» в область эколого-физиологических исследова-

ний зерновых культур, сорт можно считать буферным, (стабильным), если он оказывается устойчивым по величине урожая к широкому диапазону факторов внешней среды.

Механизмы адаптивной стабильности оригинальным образом раскрываются в учении Д.М. Гродзинского (1983) о функционировании систем «надежности» растений [8]. «Надежность или прочность», термины, заимствованные из технических наук, в биологии означают безотказность функционирования растительного организма в нормальных условиях существования и при отклонениях от нормы. Надежность характеризуется низкой частотой отказов (сбоев) во всем интервале колебания факторов внешней среды, устойчивость же определяется выживаемостью растений в крайних условиях действия какого-либо фактора, поэтому надежность является более широким понятием, чем устойчивость. При этом, отказ рассматривается, как нарушение обмена веществ и функциональной активности организма. Надежность растения определяется его способностью не допускать или ликвидировать отказы на различных уровнях организации живого. Согласно теории Д.М. Гродзинского у растений существуют два способа обеспечения надежности – стабилизирующий и восстанавливающий. Автор приходит к выводу, что надежность живых систем обеспечивается их – гибкостью; регулярностью; целесообразностью; мультифункциональностью.

«Надежность» – общее понятие, во многом объясняющее как, посредством каких внутренних систем, растения достигают адаптивной стабильности [8]. Системы стабилизации основаны на следующих принципах (рис. 9).

Рисунок 9. Принципы функционирования систем стабилизации у растений по Д.М. Гродзинскому (1983) [8]

В пользу реализации принципа избыточности (резервности) в системах стабилизации у растениях имеются следующие доказательства: диплоидия, полиплоидия хромосом (на уровне генома), резервирование метаболитов, в том числе пул свободных амино- и органических кислот, азотистых оснований, а также различные изоформы ферментов (на уровне клеточного метаболизма); наличие не одних, а нескольких хлоропластов и митохондрий (на уровне клеточных органелл); множественность пыльцы, семян, плодов (на уровне целого растения). Например, накапливающаяся в стрессовых условиях в клетках аминокислота пролин может использоваться как защитный осмотический агент, источник азота и энергии и др. [29, 30, 54].

Принцип гетерогенности компонентов наилучшим образом раскрывается в гетерогенности фермента пероксидазы, ее широкой субстратной специфичности, наличии свободных и связанных с мембранами пероксидаз, катодных и анодных форм [55-57].

Механизмы гомеостаза на уровне клетки классически могут быть представлены стадиями плазмолиза, а также изменением осмотических величин при переходе от завядания к насыщению водой, устанавливающих связь между сосущей силой и тургорным давлением. Наиболее активные в период стрессовых нагрузок системы восстановления или репарации действуют в широких пределах: различные типы репарации ДНК, пострансляционные модификации (на геномном уровне), а также пробуждение пазушных почек при повреждении апикальных меристем (на уровне целого организма) и т.д.

Характерно, что такие закономерности регистрируется на различных уровнях организации живого организма – от молекулярного до популяционного, что выдвигает, на наш взгляд, доводы в пользу универсальности представлений о системах «надежности» и их роли в формировании ОАС растений.

С точки зрения синергетической теории, каскадный тип ответных реакций растения на действие экологических факторов, проявляющихся на разных уровнях структурной организации живой материи, в конечном итоге, приводит к формированию единого принципиально целостного феномена – ОАС.

Лишь интегральный подход к взаимодействию и сочетанию оптимальных критериев работы адаптивных механизмов обеспечивает в конечном итоге наилучшую приспособленность сель-

скохозяйственных растений к изменяющимся условиям окружающей среды, их высокие и стабильные производственные характеристики – урожайность и качество зерна.

Безусловно, главным хозяйственно-полезным признаком сельскохозяйственных культур является урожайность. При этом, реализация высокой потенциальной продуктивности многих сортов в производственных условиях часто происходит только на 20-30 %. Специально поставленные опыты [58] показали, что стабильную по годам урожайность пластичный сорт в зоне его возделывания формирует не за счет биологической устойчивости к стрессовым факторам, а за счет выносливости (толерантности). По мнению ряда авторов, в селекционной практике основным критерием зимостойкости должна быть степень сохранения урожайности (агрономическая устойчивость), а не выживаемость (биологическая устойчивость) [59, 60].

Для адаптивной селекции зерновых культур важно изучение взаимодействий «генотип-среда», поскольку такие взаимосвязи разнообразны, сложны по характеру и степени проявления. С одной стороны, отбор перспективных образцов с хорошей продуктивностью внутри сортовой популяции, направлен на выделение генотипов, для которых влияние данного взаимодействия минимально, с другой, выделение сортообразцов, наилучшим образом, реализующим свой потенциал в различных агроклиматических зонах и на различных агрофонах [60, 61]. Отбор таких доноров осуществляется по фенотипическим параметрам, которые подвергаются и давлению среды [62, 63].

Данная проблема концептуально рассматривается в рамках экологической устойчивости пшеницы, ячменя, тритикале и других сельскохозяйственных культур при создании сортов конкретных агроэкологических типов в работах Р.А. Уразалиева и соавторов [64, 65].

Представляет интерес одна из недавних работ отечественных ученых S. Anuarbek et al. (2024), основанная на использовании мульти-средового анализа для оценки 82 генотипов мягкой пшеницы в течение двух вегетационных периодов в Казахстане, (восемь сред), чтобы выявить лучшие генотипы с использованием статистики стабильности на основе AMMI. Дисперсионный анализ (ANOVA) AMMI показал, что влияние окружающей среды в значительной степени объясняет изменчивость урожайности (87,6 %),

тогда как вклад генотипа (2,79 %) и взаимодействия генотип-среда (8,19 %) имели минимальное влияние. Анализируемые параметры стабильности показали положительную корреляцию между собой, что позволило выбрать стабильные генотипы, отличающиеся по урожайности и продуктивности в широком диапазоне сред [66].

Весомый вклад в понимание ОАС вносят исследования о неспецифической и специфической адаптации растений к неблагоприятным факторам среды, дискуссия о которых длится много лет.

Сторонники одной точки зрения считают, что при неблагоприятных условиях комплекс адаптивных реакций растений носит универсальный неспецифический характер, независящий от природы стрессора. Учение Н.Е. Введенского о парабиозе служило предпосылкой становления теории неспецифического адаптационного синдрома [цит. по 11]. Другие исследователи утверждают, что устойчивость растения определяют специфические приспособительные реакции, адекватные природе повреждающего фактора [67].

Адаптация к одному из факторов может приводить в некоторых случаях к устойчивости одновременно и к другим факторам среды. Существование такой «перекрестной» или сопряженной устойчивости служит важным аргументом в пользу универсального характера защитных реакций [67, 68].

Многие ученые, рассматривая природу общих механизмов адаптации к большой группе стрессоров, выделяют окислительный стресс и следующие типы универсальных механизмов его смягчения (рис. 10) [1, 31, 69].

Рисунок 10. Типы универсальных механизмов адаптации растений к экологическим стрессам

Разнообразные экологические факторы среды могут действовать длительное время или оказывать кратковременное, но достаточно сильное влияние. В первом случае, как правило, в большей степени у растений проявляются специфические механизмы устойчивости, а во втором – неспецифические [23].

При этом, следует согласиться, что общепринятое понятие «устойчивость» обозначает, как правило, отношение растения к какому-либо определенному экстремальному воздействию или комплексу тесно связанных между собой воздействий внешней среды: температура, свет, действие ТМ, других абиотических и биотических факторов. Подобные работы касаются одного, двух отдельных признаков и посвящены поиску физиолого-биохимических критериев засухоустойчивости [70, 71], зимо- и морозоустойчивости [14, 72, 73], металлоустойчивости [74, 75], формирования продуктивной структуры, высоких урожаев и качества зерновых культур, в частности пшеницы и ячменя [59, 62, 76, 78]. Большинство существующих исследований заканчиваются выделением доноров (генотипов) по одному, двум и более признакам.

Получение устойчивых к экстремальным факторам внешней среды и высококачественных генотипов зерновых культур довольно трудная задача. Решение ее позволило бы навсегда «засыпать глубокую пропасть», между генетикой и селекцией, о которой образно высказывался Н.И. Вавилов еще в 1935 г. [71]. Устойчивость к внешней среде и качество зерна относятся к комплексным полигенным признакам, часто не связанными между собой, а, наоборот, имеющим противоположную векторную направленность в природе. Дискретно-системный подход к анализу адаптивного потенциала растений позволяет более реалистично оценивать характер действия факторов внешней среды, выступающих не только в роли «сортировщика» генотипов по признакам онтогенетической адаптации, но и влияющих прямо или косвенно на генотипическую изменчивость популяции [51, 79].

Для получения адаптивных к различным экологическим факторам и комплексу стрессовых воздействий среды генотипов зерновых культур ученые применяют широкий спектр современных технологий, основанных на эффективном использовании генетических ресурсов: отбор наилучших образцов и константных линий

из сортов-популяций; выделение разнообразных гибридных комбинаций при разных схемах скрещиваний; экспериментальный мутагенез в сочетании с гибридизацией; получение сомаклональной изменчивости внутри сорта с помощью биотехнологических методов; гаплоидная технология и клеточная селекция; отдаленная гибридизация (межвидовая и межродовая) и др. [52].

Ряд современных работ связан с изучением молекулярно-генетических маркеров стресс-устойчивости, генетическим картированием полигенной природы устойчивости, EST секвенированием и микросателитной гибридизацией, созданием банков данных таких систем и т.д. [17-19].

Большие перспективы в этом плане открываются при использовании генетического пула дикорастущих видов в качестве доноров устойчивости к неблагоприятным условиям среды для гибридизации с культурными сортами [80-82]. Повышенные требования, предъявляемые к создаваемым сортам, и значительная генетическая эрозия уже существующих, стимулируют физиологов, биохимиков, генетиков и селекционеров чаще использовать диких сородичей для улучшения ценных качеств зерновых культур, в частности пшеницы и ячменя [83].

Различными экспериментами при участии профессора Hisashi Tsujimoto доказано, что линии пшеницы *Chinese Spring* с добавлением хромосом чужеродного генетического материала обладали богатыми генетическими ресурсами для повышения устойчивости к высоким температурам и улучшения показателей продуктивности [84, 85]. Результаты показали влияние нескольких хромосом *Leymus* на повышение адаптации пшеницы на последних стадиях репродукции к высоким температурам окружающей среды в условиях Судана. Три линии с интрогрессией хромосом от *Leymus* проявили высокий уровень устойчивости, тогда как две другие - толерантность к засухе, еще две линии - увеличение количества зерен в колосе [84].

В другой работе изучали морфофизиологические и производственные характеристики 34 интрогрессивных линий пшеницы вышеуказанного сорта. Интрогрессия хромосом чужеродного посредника *Agropyron intermedium* G., *Elymus trachycaulus* T5HL5HL, *El. trachycaulus* 5SS и *Haynaldia villosa* 1V положительно сказалась на улучшение структуры урожая. Чужеродные хромосомы не

оказывала отрицательного эффекта на фотосинтетические свойства интрогрессивных форм [85].

Рисунок 11. Стратегия ведения отбора на ОАС для распознавания ценных генотипов зерновых культур

В обеспечении ОАС «генетико-физиологической системы живого организма чрезвычайно важно выявление наиболее ценных критериев – показателей» гомеостатической регуляции клеточного метаболизма [86].

Вышесказанное согласуется с предложенной нами стратегией ведения селекционного отбора на ОАС для распознавание наиболее ценных генотипов зерновых культур (рис. 11) [87].

В этой связи поиск физиолого-биохимических маркеров ОАС зерновых культур, а также устойчивости к определенным экологическим стрессорам, является актуальным направлением, как теоретических, так и прикладных работ в экологии, физиолого – биохимических исследованиях, практической селекции.

Среди таких маркеров наибольшее внимание вызывает фермент пероксидаза, активность ее форм в условиях низкотемпературного стресса, а также накопление аминокислоты пролина, наблюдаемое при действии различных экологических стрессоров, в т.ч. низких температур, засухе, ТМ.

Интерес представляют работы по изучению показателей адаптивности диких сородичей, как доноров природной устойчивости к экологическим факторам внешней среды, а также обогащению отечественных коллекций зерновых культур интрогрессивным генетическим материалом с дикорастущими видами.

3. ФЕРМЕНТ ПЕРОКСИДАЗА И НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫЙ СТРЕСС

3.1. Пероксидаза – «аварийный» фермент при стрессовых воздействиях на растения

Пероксидаза – (КФ I.II.I.7 – H_2O_2 – оксидоредуктаза) ключевой фермент окислительно-восстановительного обмена, широко распространена в вегетативных органах растений, входит в состав различных клеточных структур: цитоплазму, мембраны, обладает разнообразной субстратной специфичностью, окисляя большой спектр фенольных, а также не фенольных субстратов:

$$2RH + H_2O_2 \rightarrow 2R + 2H_2O$$

Пероксидаза (*Prx*) весьма гетерогенна по изозимному составу, является полифункциональным энзимом, подвергаясь значительной изменчивости под действием неблагоприятных условий среды (температурный, водный, солевой, металлический и другие стрессы).

Современные представления о структуре, строении и механизме действия пероксидаз обобщены в многочисленных работах [37, 55,57,88-91] и др. В обзорной статье V.P. Pandey et al. (2017) растительные пероксидазы объединены в три класса, но наиболее распространены *Prx* III класса [57]. В базе данных PeroxiBase в настоящее время зарегистрировано около 5700 последовательностей *Prx* класса III или приблизительно 70 % от общего количества изученных. При этом, сообщается, что более 80 % из них гем-содержащие пероксидазы [92].

Пероксидаза является двухкомпонентным ферментом, состоящим из апофермента и простетической группы (гемина). Простатическая группа содержит железо (0,11-0,13 % от общей массы молекулы фермента), соединенное с остатками четырех пиррольных колец в виде гематина-железопорфирина IX. Гем-белковый компонент пероксидазы является одним из очень прочных комплексов. Апофермент состоит из полипептидной цепи (около 300 аминокислотных остатков) и четырех дисульфидных связей; боковой углеводной части, составляющей 20 % и более от массы молекулы пероксидазы и атомов кальция. Итак, пероксидаза – это гликопротеид.

Мономеры изопероксидаз разных растений имеют молекулярную массу от 6000 до 60000 дальтон, обычно 23000-44000 дальтон, но возможно образование димеров и тетрамеров [57, 93].

В основе механизма действия пероксидазы III класса лежит ее способность вступать во взаимодействие с разнообразными донорами водорода при участии в качестве акцептора пероксида водорода или молекулярного кислорода (оксидазная функция). В зависимости от степени окисления иона железа существует пять состояний пероксидазы, а промежуточные фермент - субстратные комплексы обладают различными спектральными характеристиками [88, 90].

К наиболее важным физиологическим функциям пероксидаз относятся: окисление субстратов, сопряженное с разложением пероксида водорода; антиоксидантная и регуляторная роль в метаболизме АФК; проявление полифенолоксидазной; ИУК-оксидазной и нитратредуктазной активностей; участие в процессах дыхания и лигнификации; роста и развития, старения, и других [55,57,94, 95].

Анализ вышеприведенных литературных источников позволяет согласиться с мнением V.P. Pandey et al. (2017) и схематично представить круг наиболее важных функций пероксидазы в растениях (рис. 12) [57].

Велика роль фермента в устойчивости растений к экологическим факторам абиотической природы: действию низких и высоких температур [96, 97]; водного [98]; солевого [99] стрессов; ТМ [100] и комбинации стрессовых воздействий, например, при засухе [101] и в других ситуациях, часто наблюдаемых в природе или создаваемых в лабораторных условиях [102]. В других исследованиях установлена активация гена пероксидазы и повышение ферментативной активности в связи с воздействием патогенов, что свидетельствует о ее роли в проявлении защитной функции в условиях действия биотического фактора [55, 103].

Пероксидазы рассматривают как один из индикаторов стресса растений, поскольку их уровень значительно и практически мгновенно возрастает после стрессовой стимуляции. Отсюда название «аварийный» фермент. Экспрессия генов *Prx* индуцируется различными факторами окружающей среды.

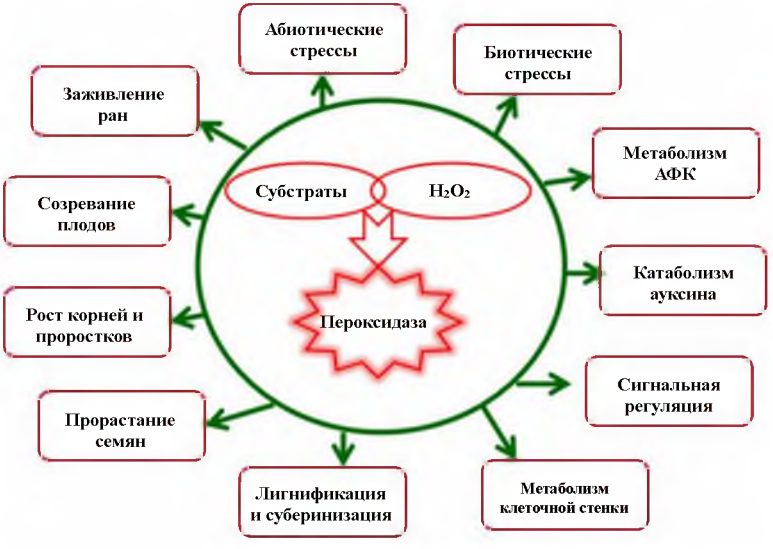


Рисунок 12. Полифункциональность растительных пероксидаз по V.P. Pandey et al. (2017) [57]

По мнению P. Sharma et al. (2012), Jun Shigeto and Yuji Tsutsumi (2016), Ю.Е. Колупаева и соавт. (2019), основной защитный ответ пероксидаз – это участие в метаболизме АФК посредством не только окисления субстратов с помощью H_2O_2, но также в превращении свободных радикалов, уровень которых значительно возрастает в условиях окислительного стресса [104, 37, 105]. В свою очередь, именно, окислительный стресс сопровождает большинство других стрессов, возникающих в растениях в процессе развития и взаимодействия с окружающей средой (рис. 13).

Авторами приведен анализ литературных данных по идентификации ген-кодирующих локусов и субстратной специфичности пероксидаз, выделенных из различных растительных объектов [37]. В настоящее время гены пероксидазы и их промоторы успешно используются для молекулярной селекции сельскохозяйственных растений [106].

Субстратами пероксидазного окисления могут быть моно-, ди- и полифенолы, ароматические амины и кислоты, неорганические ионы, аскорбиновая кислота и НАД(Ф)H_2, триптофан, тирозин, анилины и ряд других веществ [94, 107].

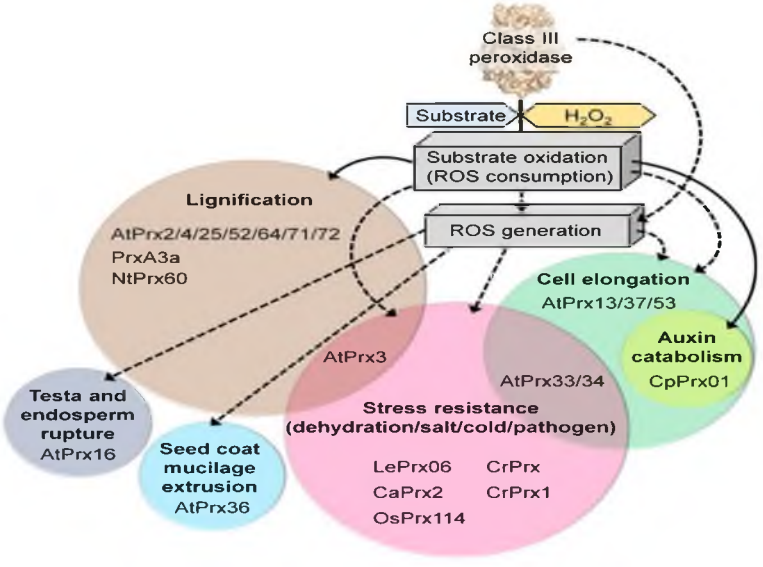


Рисунок 13. Функции пероксидаз III класса по детоксикации АФК (ROS), определяемые методом обратных генетических исследований по Jun Shigeto and Yuji Tsutsumi (2016) [37]

Причина столь широкой субстратной специфичности фермента заключается в том, что в зависимости от субстрата может реализоваться несколько механизмов электронного транспорта. Динамичная структура активного центра, полифункциональность его групп – факторы, обеспечивающие эффективное выполнение физиологических функций пероксидазы в стрессовых условиях [90, 106, 108].

В формировании комплекса защитных механизмов устойчивости растений через активизацию ферментных систем важное значение имеют разнообразные места локализации пероксидазы в клетке: она обнаружена в цитоплазме; связана с клеточной стенкой, мембранами органоидов, плазмалеммой; найдена в хлоропластах и митохондриях; ассоциирована с рибосомами; открыта в ядре и рибонуклеопротеидных комплексах [55, 57, 108]. В нарушениях нормального клеточного гомеостаза растений различная роль отводится цитоплазматической (растворимой или сво-

бодной) форме фермента и ионно- и ковалентно-связанным фракциям пероксидазы, ассоциированным с мембранными структурами, клеточной стенкой [109-111].

Пероксидазы растений, как правило, обнаруживают множественные молекулярные формы (ММФ), именуемые также «изопероксидазы», «изоферменты» или «изозимы», выявленные электрофорезом (ЭФ), изоэлектрофокусированием (ИЭФ) и другими способами и отличающиеся по относительной подвижности в электрическом поле (ОЭП). Разнокачественность изоферментного состава пероксидаз в условиях действия неблагоприятных факторов среды, обусловленная повышением активности одних и ослаблением других, появлением новых изоформ в ответ на действия стрессоров, наблюдалась многими исследователями на различных растительных объектах [112-114].

По мнению ряда авторов [110, 115] катодные или основные пероксидазы целесообразно применять в качестве маркеров в генетических и селекционных исследованиях. Другие исследователи отводят первостепенную роль анодным пероксидазам в связи с изучением процессов лигнификации, вирусоустойчивости растений [57, 103, 108].

Широкая локализация в клетке, выделение свободных и связанных фракций, различная субстратная специфичность и наличие ММФ свидетельствуют о существовании «пероксидазного комплекса» в растениях.

«Пероксидазный комплекс» относится к числу индуцибельных, т.е. активируется либо ингибируется под влиянием самых разнообразных воздействий, что проявляется в изменении общей активности фермента и его фракций, гетерогенности изоформ. Вышеприведенные сведения позволяют с уверенностью считать пероксидазу важнейшим ферментом в защитной системе клетки, рассматривая повышение ее активности как неспецифическую ответную реакцию организма на стрессы различной природы. Одновременно с этим, появление новых изоформ фермента при формировании устойчивости к тому или иному стрессовому фактору может свидетельствовать об экспрессии определенных генных локусов, ответственных за активацию адаптивных изопероксидаз, что, несомненно, связано с «запуском» специфических механизмов адаптации.

3.2. Пероксидаза и морозоустойчивость озимой пшеницы

3.2.1. Изменение активности пероксидазы в листьях озимой пшеницы под влиянием низкотемпературного стресса

Работами многих ученых [113, 116, 117] установлен факт увеличения пероксидазной активности в вегетативных органах различных растений при воздействии на них низких температур. Н.Н. Сазонов (2014) отмечает увеличение активности растворимой фракции пероксидазы и других железопор-фириновых оксидаз более, чем в три раза при охлаждении озимого ячменя в холодильных камерах до минус 7 °С [118].

Следует отметить, что особую важность в понимании функционирования ферментативного аппарата, в т.ч. пероксидазы, у различных по уровню морозостойкости сортообразцов представляет оптимизация режима охлаждения, позволяющего наилучшим образом активизировать механизмы низкотемпературной адаптации пшениц. В опытах по изучению активности пероксидазы в условиях различных режимов охлаждения и установления возможной связи с морозостойкостью озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum L.*) выделение свободных и связанных пероксидаз осуществляли по методике [109]. Учитывая, что для формирования морозоустойчивости растений необходим свет [14], в процессе охлаждения проростки подвергали ежесуточному искусственному 10-часовому освещению 5000 люкс. Работы по изучению пероксидазного комплекса листьев пшеницы были начаты под руководством профессора Ю.В.Перуанского и в дальнейшем продолжены самостоятельно.

Свободная форма пероксидазы. Применение режимов ступенчатого охлаждения от пониженных положительных (+8...+10 °С) до низких отрицательных (-18...-20 °С) показало, что ход кривых зависимости активности свободных пероксидаз листьев проростков морозостойких пшениц обнаруживает пик активности при температуре -5...-7 °С (рис. 14а). Под влиянием ступенчатого охлаждения до этой температуры активность фермента высоко-

морозостойких генотипов – Алабасская, Альбидум 114 повышается в среднем в 2,4-2,5 раза, у морозостойкой Мироновской 808 более, чем 2,1 раз, среднеморозостойкой Безостой 1 увеличивается в 1,7 раза по сравнению с активностью пероксидазы в контроле.

Динамика активности свободной или растворимой фракции пероксидазы слабоморозостойких образцов имеет общую направленность с максимумом на второй ступени охлаждения при +3...+5 °С, а температура -5...-7 °С вызывает снижение ферментативной активности таких растений (рис. 14б). Общим в изменении активности пероксидаз для всех изучаемых объектов является повышение ее на начальных этапах охлаждения и значительное уменьшение при охлаждении ниже -5...-7 °С, причем уровень ингибирования пероксидазной реакции на последних ступенях охлаждения выше у неморозостойких генотипов. Уровни резистентности пероксидазы, а следовательно, и проявление максимальной активности фермента из листьев устойчивых и неустойчивых к низким температурам пшениц различны.

Наиболее оптимальным в увеличении контрастности между морозо- и слабоморозостойкими генотипами озимой пшеницы является режим ступенчатого охлаждения до -5...-7 °С в течение 6 суток, который применяли для проведения основных экспериментов в качестве стационарного. В этом режиме охлаждения достигается максимальная дифференцировка в обособлении групп высоко- (Алабасская, Альбидум 114), морозо- (Мироновская 808), средне- (Безостая 1), ниже среднего (Богарная 56, Кавказ) и неморозостойких (Красноводопадская 210) растений по показателю общей активности свободной фракции пероксидазы [119].

Полученные результаты согласуются с представлениями П. Хочачка, Д. Сомеро (1977), А.А. Игнатенко и соавт. (2018) и других исследователей о более высокой термоустойчивости ферментных систем у морозостойких сортов по сравнению с неморозостойкими [5, 96]. При этом, накопление перекисей, АФК и повышение активности пероксидазы, связанное с регуляцией их метаболизма, рассматривают в качестве защитной функции растения в неблагоприятных условиях [55, 120].

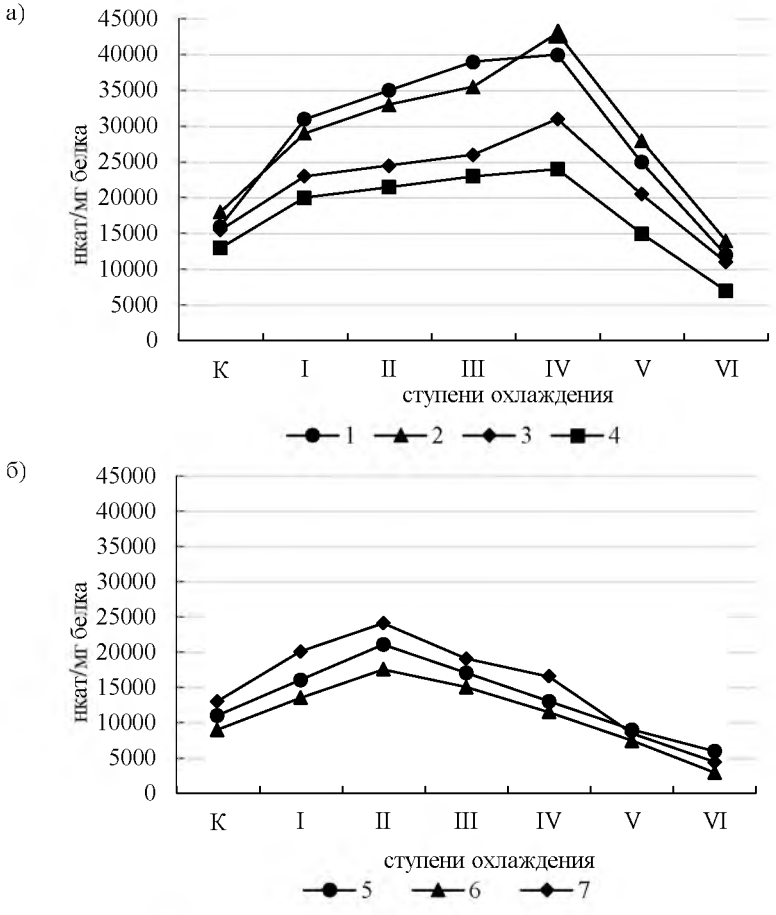


Рисунок 14. Влияние охлаждения на активность свободных пероксидаз морозостойких (а) и слабоморозостойких (б) сортов озимой пшеницы: 1 – Алабасская, 2 – Альбидум 114, 3 – Мироновская 808, 4 – Безостая 1, 5 – Богарная 56, 6 – Кавказ, 7 – Красноводопадская 210
Ступени охлаждения: К – контроль; I ступень +8...+10 °С – одни сутки; II ступень +3...+5 °С – вторые сутки; III ступень 0...-2 °С – третьи-пятые сутки; IV ступень -5...-7 °С – шестые сутки; V ступень -10...-12 °С – седьмые сутки; VI ступень -18...-20 °С – восьмые сутки

Различия в активности пероксидазы проростков пшениц, адаптированных и не прошедших адаптацию к экстремальным условиям Севера обусловлены увеличением конформационной подвижности фермента в результате дестабилизации нативной структуры

белка, уменьшения количества слабых взаимодействий. Неизменность каталитических констант и активационных термодинамических параметров связывают со стабильной, консервативной структурой активного центра фермента, прочностью гем-белкового комплекса пероксидазы морозостойких сортообразцов. Это, несомненно, имеет важное значение при перестройке метаболизма растений к низкотемпературному стрессу [116]. Одной из возможных причин, стабилизирующих активный центр пероксидазы, является присутствие в молекуле энзима кальция (Ca^{2+}). Он необходим для поддержания структуры фермента в ближайшем окружении гем-группы [93]. Установлено, что низкотемпературный стресс вызывает накопление в цитоплазме клетки ионов Ca^{2+}, что, видимо, положительно влияет на проявление высокой пероксидазной активности. Присутствующие в молекуле фермента углеводы необходимы для защиты пероксидазы от действия протеолитических ферментов [55, 90], которые значительно активизируются при охлаждении.

По мнению A. Ignatenko et al. (2019), Veena Devi et al. (2023) рассматриваемый фермент может обладать криопротекторными свойствами [121, 122].

Криозимы составляют небольшую часть криобелков и сохраняют каталитическую активность при температурах ниже 10°С, и в этом отношении они отличаются от белков-криопротекторов и БТШ растений [123].

Представляют определенный интерес опыты, проводимые при пониженных температурах реакционной смеси с использованием специального вакуумного резервуара для поддержания низких температур и антифриза – 20 % глицерина [119]. Накопление глицерина в цитоплазме способствует понижению температуры замерзания внутриклеточной жидкости. Прочно связывая воду, глицерин препятствует льдообразованию [122]. Экспериментальные данные показали ингибирование пероксидазной активности у всех исследуемых сортов (рис. 15). Это согласуется с представлением о том, что низкие температуры замедляют синтез белков и других метаболических процессов [9, 14, 122]. Однако, наиболее значительная дифференцировка между различающимися по морозостойкости образцами наблюдалась при температуре -5…-7 °С, особенно для растений, испытавших предварительную крионагрузку.

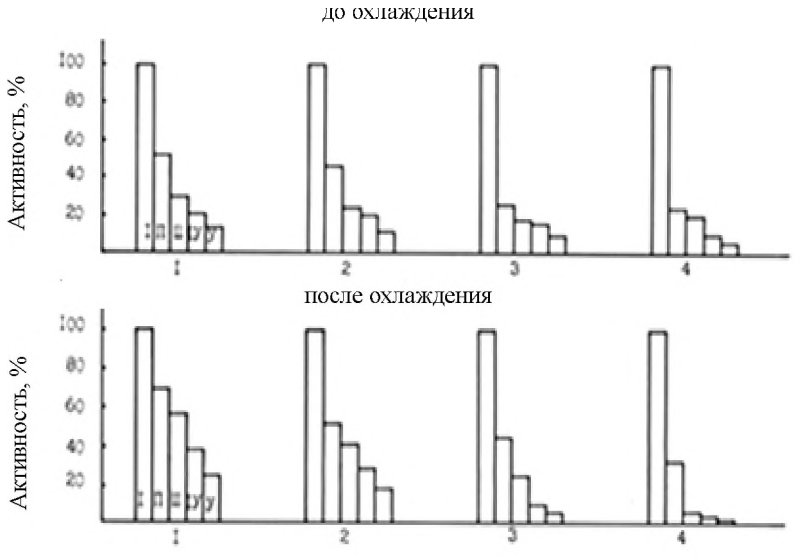


Рисунок 15. Влияние низких температур реакционной смеси на активность пероксидазы у различных по морозоустойчивости сортов озимой пшеницы:
1 – Алабасская, 2 – Мироновская 808, 3 – Безостая 1, 4 – Красноводопадская 210
Температуры реакционной смеси при проведении эксперимента:
I – +20…+22 °С; II – + 8…+10 °С; III – +3…+5 °С; IV – 0…-2 °С; V – -5…-7 °С

Связанная форма пероксидазы. Показано, что при охлаждении активность связанных с клеточными стенками пероксидаз возрастает, но менее значительно, чем свободных форм в первичных корнях кукурузы [124], листьях проростков пшеницы [96], вегетативной массе однолетних популяций люцерны [113].

Для выделения связанных пероксидаз применяют неионный детергент тритоном Х-100, вызывающий минимальный денатурирующий эффект, и более жесткий - ДДС-*N*а [125].

Активность связанных пероксидаз, выделенных 1% тритоном Х-100 из листьев контрастных по устойчивости пшениц, повышалась после охлаждения. При этом у морозостойких пшениц активность связанных пероксидаз в опытах после охлаждения, увеличивалась в среднем в 1,7-2,0 раза, а у слабоморозостойких она повышалась незначительно или, наоборот, понижалась, как у Красноводопадской 210 (на 60-62 %).

Коэффициент устойчивости ($К_у$), рассчитанный по активности связанной формы фермента после охлаждения в стационарном режиме, позволил создать шкалу морозостойкости растений озимой пшеницы (табл. 1).

Таблица 1. Шкала морозостойкости растений озимой пшеницы по коэффициенту устойчивости, рассчитанному по активности связанной пероксидазы после охлаждения

Группа морозостойкости	Сорт озимой пшеницы	Коэффициент устойчивости ($К_у$)
Высокоморозостойкая	Алабасская Альбидум 114	2,5-2,7 и выше
Морозостойкая	Мироновская 808	1,7-1,8
Среднеморозостойкая	Безостая 1	1,0
Слабоморозостойкая	Кавказ Богарная 56	0,4-0,6
Неморозостойкая	Красноводопадская 210	0,2-0,3 и ниже

Следует отметить, связанные пероксидазы, выделенные 0,01 % ДДС-*N*а, также обнаруживали, но менее дифференцированный уровень изменения активности у морозоустойчивых (Мироновская 808) и менее стойких (Безостая1) пшениц после охлаждения.

По данным Nourredine et al. (2015) [113] щелочные изопероксидазы более устойчивы к действию экстремальных температур, чем нейтральные. Предполагают, что в стрессовых условиях происходит практически «мгновенное» увеличение активности основных пероксидаз, уровень которых значительно превосходит активность кислых форм фермента [117]. Однако данные авторы не учитывают соотношения активностей катодных и анодных пероксидаз, а рассматривают эти две формы фермента независимо.

Катодная и анодная формы пероксидазы. Целесообразным явились опыты по установлению роли катодных и анодных изопероксидаз в адаптации пшениц к низкотемпературному стрессу, выделение которых осуществляли электрофоретически с последующей денситометрией согласно [119].

Обнаружено, что под влиянием охлаждения анодные и катодные изопероксидазы обоих генотипов ведут себя по-разному: от-

мечается увеличение активности катодных и уменьшение анодных на фоне увеличения общей активности фермента. Такие изменения наиболее четко выражены у морозостойкой Мироновской 808 (рис. 16). Эта закономерность подтверждается при анализе катодных и анодных форм связанных пероксидаз.

Базируясь на результатах экспериментов по изменению активности свободных и связанных пероксидаз, их катодных и анодных изоформ при ступенчатом охлаждении до -5...-7°С, рассчитывали коэффициент изменчивости (Ки) (рис. 17).

$$\text{Ки} = \frac{\text{активность изопероксидаз после охлаждения}}{\text{активность изопероксидаз до охлаждения}}$$

Коэффициент изменчивости (Ки), рассчитанный по активности катодных пероксидаз, значительно варьирует у различных по устойчивости к низким отрицательным температурам генотипов и позволяет установить более существенные различия между морозо- и неморозостойкими образцами, чем по активности свободных и связанных форм фермента.

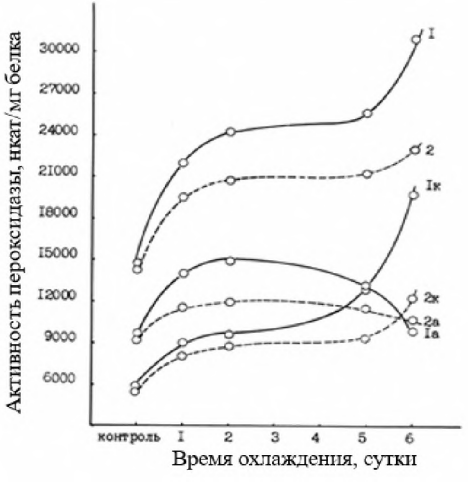


Рисунок 16. Влияние ступенчатого охлаждения на активность пероксидазы растений озимой пшеницы: I – Мироновская 808 (общая); Iк – катодные формы; Iа – анодные формы; 2 – Безостая 1 (общая), 2к – катодные формы; 2а – анодные формы.

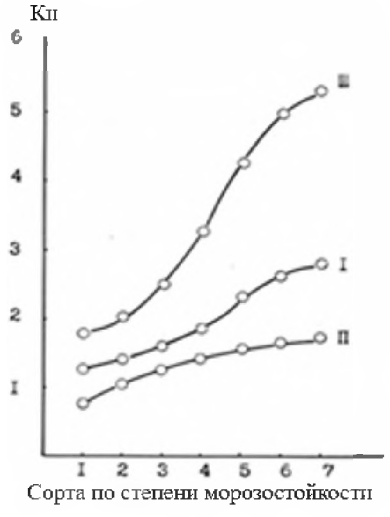


Рисунок 17. Зависимость между коэффициентом изменчивости (Ки) пероксидаз и степенью морозостойкости озимой пшеницы:
I – свободные; II – связанные; III – катодные
Сорта озимой пшеницы: 1 – Красноводопадская 210; 2 – Кавказ; 3 – Богарная 56; 4- Безостая 1; 5 – Мироновская 808; 6 – Альбидум 114; 7 – Алабасская

Относительная и удельная активности изопероксидаз. Катодный (от «+» к «-») и анодный (от «-» к «+») ЭФ проводили в цилиндрических трубках и в тонком слое полиакриламидного геля (ПААГ) как указано в работах [119, 124].

Согласно ОЭП все катодные, а также анодные изопероксидазы делили на 3 группы: А, В и С.

А группа компонентов включала в себя высокомолекулярные, низкоподвижные изозимы пероксидазы с ОЭП 0-36; В группа – среднеподвижные, расположенные в области спектра с ОЭП 37-61 компоненты; С группа объединяла быстромигрирующие компоненты с ОЭП 62-100. В анодном спектре значительного перераспределения активности между изозимами групп А, В, С не обнаруживается.

Относительную активность изопероксидаз определяли по методу E.H.Liu (1978), в основе которого лежит обратная пропорциональная зависимость между временем проявления отдельных

изоформ фермента и их относительной активностью. Соотношение изопероксидаз в ПААГ определяли также сканированием на денситометре [126].

Наряду с изменением относительной активности изопероксидаз установлено, что достоверную информацию о количественных изменениях изоформ под влиянием низкотемпературного стресса может дать расчет их активности, соотнесенной на содержание белка, т.е. удельной активности.

Принципиальная новизна предложенного нами способа определения удельной активности изопероксидаз в ПААГ подтверждена Патентом № 8194 РК [127]. Она заключается в том, что активность, содержание белка изопероксидаз регистрировали денситометрически после обработки более чувствительным серебряным реагентом по C.R. Merril et al. (1981). Расчет удельной активности проводили на основе калибровочных графиков [128]. В качестве стандарта использовали стандартный препарат пероксидазы из хрена. Этот метод позволяет количественно определять изменения, сопровождающие низкотемпературный стресс в клетке, не только активности, но и содержания белка отдельных изоформ пероксидазы.

Корреляционно-регрессионный анализ подтвердил вывод о различной роли катодных и анодных изопероксидаз в адаптации к экстремальным температурным условиям, обнаружив среди компонентов анодного электрофоретического спектра более высокий, по сравнению с катодными, процент ингибирования при понижении температур.

Зависимость между изменениями активности изозимов пероксидазы катодного и анодного ЭФ спектров (y) и определенными температурными ступенчатого охлаждения (x) описываются уравнением регрессии единой линейной модели вида:

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + \ldots + a_nx_n.$$

В целом обнаружены три группы изозимов пероксидазы анодного и катодного ЭФ спектров с высоким положительным и отрицательным коэффициентами корреляции ($R \geq +0,7$), а также изоформы, активность которых слабо коррелирует с режимом ступенчатого понижения температур.

Действие закаливающих температур, в частности, при ступенчатом их понижении, приводит к изменению конформации, электрохимических свойств белков, индуцированному синтезу белков устойчивых к коагуляции [122, 123].

Следует отметить, что выявленная при ЭФ разделении фермента разнокачественность отдельных изоформ в условиях низкотемпературного стресса подтверждалась опытами по изучению субстратной специфичности к бензидину, о-дианизидину, кофейной кислоте (0,02 % - 0,025 % в ацетатном буфере pH 4,7), о-фенилендиамину и *п*-анизидину (0,05 % в ацетатном буфере pH 4,7). Как правило, относительная активность многих изоформ пероксидазы при окислении кофейной кислотой отличалась от других субстратов. Видимо, это объясняется тем, что изучаемые субстраты, кроме кофейной кислоты, относятся к одному классу соединений - ароматическим аминам [119].

Считают, что этот феномен, т.е. специфичность в отношении того или иного субстрата пероксидазного окисления может существенно меняться при изменении физиологического состояния клеток, попадания растений в стрессовые условия, при низкотемпературных воздействиях [111, 129].

Установлены черты сходства-различий в характере взаимодействия изопероксидаз изучаемых генотипов озимой пшеницы при инкубации ПААГ с различными субстратами:

– отсутствие качественных трансформаций в изопероксидазных спектрах;

– увеличение в среднем в 2 раза сродства к субстратам после охлаждения, что можно объяснить повышением общего уровня активности фермента под влиянием низкотемпературного стресса;

– общие тенденции в эффективности окисления различных доноров водорода; изменения субстратной специфичности под влиянием низкотемпературного стресса, что наиболее существенно для А12, А25, А32, В50.

Абиотические стрессы различной природы, такие как низкие и высокие температуры, действие солей, приводят к обезвоживанию клетки, что влечет за собой изменения редокс–потенциала внутриклеточной среды, баланса субстратов, пула свободных аминокислот и многие другие [21, 31, 32].

Считаем, что проявлением быстро действующих защитных механизмов клетки, связанных с отклонениями от нормы pH внутриклеточной среды, являются повышение активности, качественные и количественные трансформации, именно, катодных изоформ фермента, обладающих выраженными гидрофильными свойствами. В условиях неблагоприятной температуры число каталитически активных и других белков не просто увеличивается, но идет замещение одних форм белков иными [97, 117, 122, 123, 129].

Итак, по современным представлениям возможными причинами увеличения активности «пероксидазного комплекса» при действии на зерновые культуры низкотемпературного фактора могут быть: увеличение содержания фермента в тканях за счет интенсификации биосинтеза, либо замедление процессов деградации пероксидазы in vivo; увеличение молекулярной активности фермента за счет конформационных изменений белковой глобулы, а также в результате синтеза новых изоформ пероксидазы с большей каталитической константой или меньшими сродством к субстратам.

Катодные изопероксидазы и морозостойкость. Установлено, что катодные изоформы пероксидазы – гетерогенны, содержат 10-13 компонентов, а после охлаждения их число увеличивалось у некоторых сортов до 15. Наиболее богата компонентами А группа, В – менее, С – занимает промежуточное положение.

Степень морозоустойчивости при ступенчатом охлаждении проростков до 0…-2 °С увеличивалась пропорционально росту активности изопероксидаз группы А и обратно пропорционально изопероксидазам групп В и С катодного ЭФ спектра (рис. 18).

Положение о том, что активность катодных пероксидаз в условиях низкотемпературного стресса повышается пропорционально степени морозостойкости пшеницы отражено в содержании Патента РК № 8174 [102].

Адаптивные изозимы, связанные с переходом растений к функционированию в экстремальных температурных условиях, появились при охлаждении проростков, как правило, среди изопероксидаз А группы.

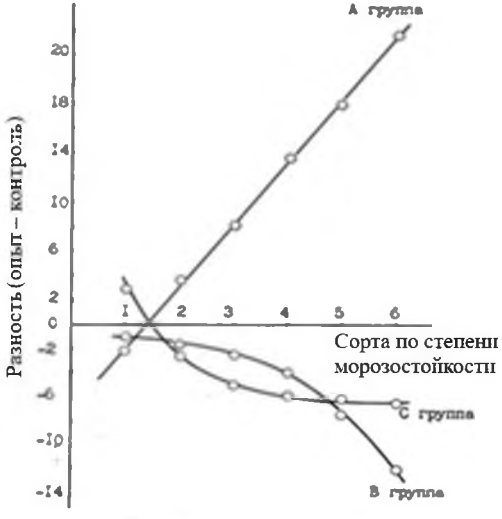


Рисунок 18. Изменчивость под влиянием ступенчатого охлаждения до 0…-2 °С суммарной активности катодных изопероксидаз в группах А, В, С сортов озимой пшеницы: I – Красноводопадская 210; 2 – Кавказ; 3 – Безостая 1; 4 – Мироновская 808; 5 – Альбидум 114; 6 – Алабасская

В группах В и С качественные изменения наблюдались редко. Сорта с различной морозостойкостью неоднозначно реагировали на понижение температур, что подтверждалось изменениями активности существующих полос с пероксидазной активностью в ПААГ и появлением новых. Так, в спектре изопероксидаз Алабасской было обнаружено три адаптивные формы (А21, А28, А32); Мироновской 808-3 (А12, А32, С67), Безостой1-2 (А12 и А32), у неморозостойких – Кавказ и Красноводопадская 210 наблюдалось значительное ослабление активности изопероксидазы А32 вплоть до исчезновения на последней ступени охлаждения и активизация А25 изоформы. Адаптивные изозимы наблюдались также среди анодных пероксидаз, но активность их в условиях низкотемпературного стресса невелика.

Маркерные катодные изопероксидазы А25 и А32 листьев проростков в связи с морозоустойчивостью озимой пшеницы. Применение более низких температур, а именно, режима ступенчатого охлаждения до -5…-7 °С позволило выявить в ЭФ спектрах

маркерные изозимы пероксидазы, активность которых может быть показателем степени морозостойкости сортообразцов. К их числу относятся катодные изопероксидазы группы А: А25 и А32 (рис. 19).

Из данных таблиц 2 и 3 следует, что активность А25 и А32 катодных изопероксидаз противоположна по направленности. Иными словами, степень морозостойкости растений повышается с увеличением относительной активности изопероксидазы А32 и уменьшается при снижении относительной активности А25 в опытах после ступенчатого охлаждения.

Учитывая, что изопероксидазы листьев проростков пшеницы контролируются короткими плечами 2В и 2Д хромосом, возможно и 2А хромосомы [115, 106], а эти хромосомы по данным ряда авторов [130-132], могут определять свойство морозостойкости пшеницы, пришли к заключению, что А25 и А32 изопероксидазы листьев проростков являются биохимическими маркерами морозостойкости озимой пшеницы.

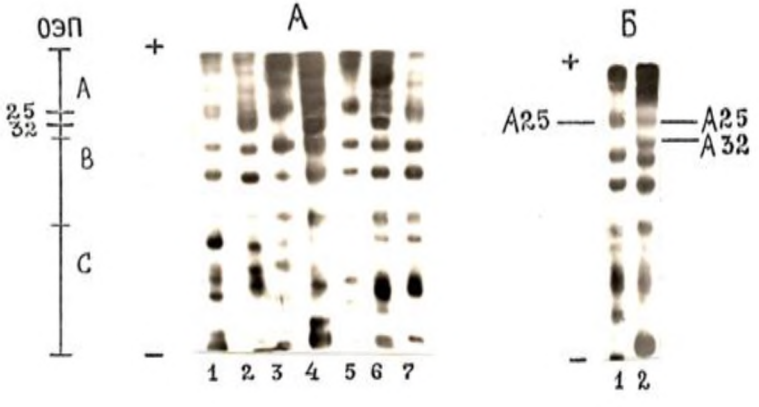


Рисунок 19. Катодные пероксидазы листьев проростков после ступенчатого охлаждения до -5…-7 °С озимой пшеницы следующих сортов: А – Безостая1; 2 – Альбидум 114; 3 – Кавказ; 4 – Алабасская; 5 – Красноводопадская 210; 6 – Мироновская 808; 7 – Богарная 56; Б – Маркерные А25 и А32 катодные изопероксидазы листьев проростков неморозостойкого сорта 1 – Красноводопадская 210 и морозостойкого сорта 2 – Прогресс

Таблица 2. Относительная активность катодных изопероксидаз в листьях проростков различных по морозостойкости сортов пшеницы после охлаждения до -5…-7 °С, %

Катодные изоформы пероксидазы	Красноводопадская 210	Кавказ	Богарная 56	Безостая 1
А25	36,5±1,08	18,92±0,76	16,83±0,72	10,75±0,43
А32	-	7,18±0,30	7,74±0,33	18,01±0,66

Таблица 3. Относительная активность катодных изопероксидаз в листьях проростков различных по морозостойкости сортов пшеницы после охлаждения до -5…-7 °С, %

Катодные изоформы пероксидазы	Прогресс	Мироновская 808	Альбидум 114	Алабасская
А25	8,0±0,2	7,65±0,31	4,15±0,14	3,29±0,13
А32	24,2±0,7	24,69±0,92	31,95±0,98	38,15±1,26

Таким образом, полученные данные по шести контрастным по морозостойкости сортам озимой пшеницы свидетельствует о том, что существует сортовая специфичность:

– связи с реагированием на действие низкотемпературного стресса, которое обусловлено определенной степенью морозостойкости генотипа;

– по составу и активности катодных изопероксидаз листьев на ранних этапах онтогенеза;

– по активности маркерных катодных изоформ пероксидазы А25 и А32, что может послужить основой для разработки лабораторного метода диагностики морозоустойчивости озимой пшеницы.

Аминокислотный состав маркерных катодных изопероксидаз А25 и А32. Аминокислотный состав изопероксидаз проводили по методике, описанной в статье [133]. Охлаждение вызывает значительные изменения аминокислотного состава изопероксидаз изучаемых сортов пшеницы. Особенно это касается содержания гистидина, лизина, аргинина, аланина, серина. В целом

выявлены три группы аминокислот, содержание которых повышается, понижается и варьирует незначительно под влиянием данного стрессового фактора (табл. 4).

Таблица 4. Аминокислотный состав изопероксидаз листьев проростков озимой пшеницы, моль/% (ошибка в расчетах не превышает 3-5 %)

Аминокислоты	Богарная 56				Альбидум 114			
	до охлаждения (контроль)		после охлаждения		до охлаждения (контроль)		после охлаждения	
	А25	А32	А25	А32	А25	А32	А25	А32
Аспарагиновая кислота	7,6	7,3	7,4	6,1	7,1	9,4	6,8	9,1
Треонин	3,1	2,6	3,0	3,1	3,2	1,9	2,1	3,1
Серин	7,0	5,5	6,6	5,3	7,1	7,7	11,5	7,4
Глутаминовая кислота	11,5	9,0	10,4	8,8	10,3	8,4	8,9	11,0
Пролин	5,2	4,6	6,0	5,3	5,1	7,1	2,9	4,8
Глицин	20,3	21,3	19,4	19,7	11,5	24,8	28,1	22,6
Аланин	7,0	7,9	8,3	10,1	5,8	13,2	13,9	8,3
Цистин	8,6	6,6	6,0	5,7	6,4	2,6	5,5	0,9
Валин	4,2	2,6	3,0	2,6	2,6	2,3	2,3	3,6
Метионин	1,6	0,7	0,6	0,4	1,3	1,0	0,4	0,7
Изолейцин	2,6	2,2	2,4	1,8	3,9	2,6	2,1	3,3
Лейцин	5,5	4,0	5,1	4,4	6,4	3,9	4,4	6,4
Тирозин	следы	0,9	0,9	1,8	1,9	2,6	2,3	2,6
Фенилалалин	1,6	0,9	1,5	1,8	3,9	1,3	1,1	2,1
Гистидин	6,0	14,3	10,1	14,0	16,0	5,2	2,6	5,4
Лизин	3,4	5,9	3,3	2,6	3,2	2,3	2,6	4,5
Аргинин	5,0	3,7	5,7	6,6	4,5	3,9	2,7	4,7
Средняя гидрофобность (кал/остаток)								
По Bigelow	720	637	707	680	824	713	610	764
По Lawson et al.	487	463	504	492	566	515	406	507

При расчете средней гидрофобности с использованием констант для аминокислот по методу C.C.Bigelow [134] установлено, что низкотемпературный стресс способствовал уменьшению гидрофобности изофермента А25 и увеличению таковой изопероксидазы А32 независимо от сорта. Однако, применяя другие коэффициенты для аминокислот, как предлагают E.Q.Lawson et al. [135], оказалось, что охлаждение проростков приводило к увеличению гидрофобности катодных изоформ пероксидазы слабоморозостойкого сорта

Богарная 56 и снижению гидрофобности тех же изопероксидаз у высокоморозостойкого сорта Альбидум 114.

Обработку данных по аминокислотному составу изопероксидаз проводили методом кластерного анализа по Б. Дюран и П. Оделл [136]. Кластеризацию в этом и других экспериментах осуществляли по иерархическому агломеративному алгоритму, используя в качестве количественной меры сходства-различий минимум произведения между коэффициентами корреляции и евклидовым расстоянием Д·(1-R).

В целом обнаружено три кластера. В первый вошли все изоферменты сорта Богарная 56, как контрольные, так и выделенные из проростков, подверженных ступенчатому охлаждению. Второй и третий кластеры состояли из изопероксидаз сорта Альбидум 114, причем в каждом из них находились изоферменты А25 и А32.

При корреляционном анализе, входящем в программу кластеризации объектов, выявлены высокие коэффициенты корреляции между отдельными аминокислотами. Наиболее тесная положительная корреляция обнаружена для треонина, глутаминовой кислоты и лейцина, а также для лейцина, изолейцина и фенилаланина (рис. 20).

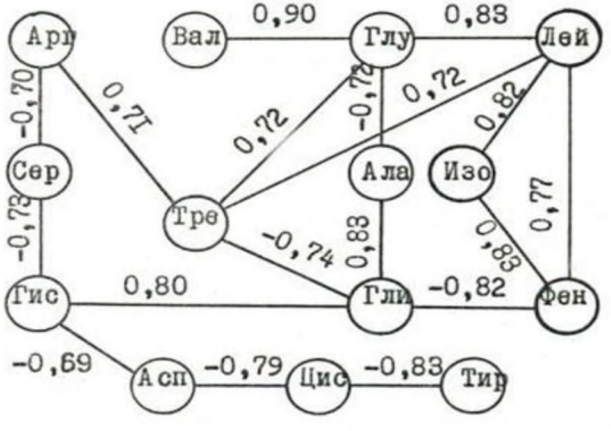


Рисунок 20. Коэффициенты корреляции между аминокислотами катодных А25 и А32 изопероксидаз проростков пшеницы

Необходимо отметить, что количественная мера сходства-различия установлена, с одной стороны, на основании неоднородности аминокислотного состава катодных А25 и А32 изопероксидаз, а с другой, – благодаря определенным взаимосвязям в изменчивости аминокислот под влиянием низкотемпературного стресса.

Полученные данные согласуются с выводами об изменении аминокислотного состава пероксидаз проростков кукурузы под влиянием низкотемпературного стресса, в частности, содержания таких аминокислот, как изолейцин, лейцин, а также аргинин и валин. Результаты по гидрофобности изопероксидаз листьев пшеницы находят подтверждение в работах [124, 135]. Известно, что молекулы вновь синтезированных, стресс-поврежденных или мутантных белков имеют на поверхности гидрофобные группы аминокислот. Увеличение средней гидрофобности суммарных пероксидаз из проростков кукурузы связывают с перестройкой метаболических процессов, необходимых для нормального функционирования в условиях температурного стресса.

Адаптивный ответ растений на такие превращения метаболизма проявляется в вариациях ферментативной активности белков, в частности пероксидазы, что приводит к изменению их аминокислотного состава и конформационных характеристик, повышению роли отдельных изоформ – маркеров устойчивости. Существенная трансформация аминокислотного состава щелочных изопероксидаз пшеницы при низкотемпературном стрессе позволяет предположить наличие регуляторных механизмов экспрессии аллельных генов в связи с адаптацией к неблагоприятным условиям внешней среды [100].

Действие низкотемпературного стресса на изопероксидазы пшеницы, различающиеся по изоэлектрическим точкам. Изоэлектрофокусирование (ИЭФ) пероксидаз осуществляли по методике, изложенной в статье [137]. Исходя из величин изоэлектрических точек, ориентации изозимов в ПААГ после ИЭФ, весь спектр условно разделили на три зоны: «кислые» изопероксидазы с изоэлектрическими точками (ИЭТ) в диапазоне 3,40-5,40; «нейтральные» с ИЭТ от 5,95 до 8,05; «щелочные» изоформы с ИЭТ от 8,20 до 11,20. Области «кислых» и «нейтральных» пероксидаз пшеницы насчитывают по 7 изоферментов, а зона с ИЭТ – от 8,20 до 11,20 состоит из 8 пероксидаз.

Ступенчатое охлаждение проростков вызвало повышение относительной активности «нейтральных» и «щелочных» пероксидаз в листьях более морозоустойчивых генотипов Альбидум 114 и Опакс-1, но снижение таковой у слабоморозостойкой Богарной 56. Противоположная тенденция наблюдалась нами для пероксидаз, ИЭТ которых расположены в «кислой» области спектра (рис. 21).

Итак, по соотношению активности изопероксидаз в группах с различными ИЭТ обнаружена сортовая специфичность, более четко проявляющаяся после охлаждения проростков. ИЭТ изучаемых пшениц по качественному составу были практически идентичны, но различались количественно – по удельной активности индивидуальных изоформ, как показано в таблице 5.

Факт возрастания удельной активности после охлаждения, связанный со значительным ростом активности и белкового содержания у определенных изопероксидаз, можно объяснить усилением синтеза этих ферментов в условиях низкотемпературного стресса, т.е. количественными изменениями экспрессии существующих в норме белков [116,129,138,139]. Это, видимо, относится к изоформам с ИЭТ 3,50 - Альбидум 114, с ИЭТ 3,90; 4,10; 5,95 - Богарной 56.

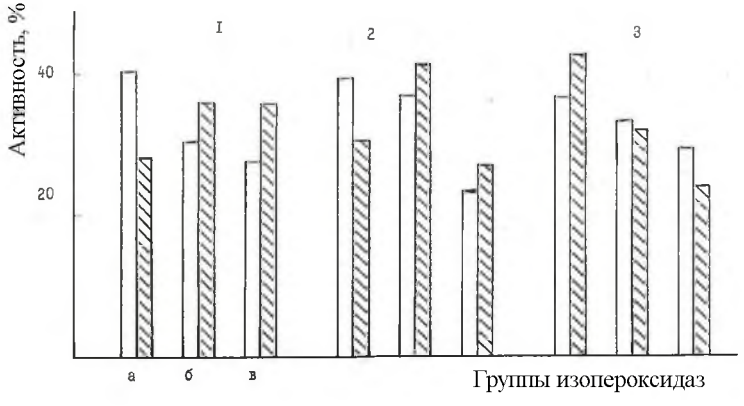


Рисунок 21. Изменчивость в соотношении активности групп изопероксидаз листьев проростков пшеницы, различающихся по ИЭТ
1 – Альбидум 114, 2 – Опакс1, 3 – Богарная 56
Незаштрихованные столбики – до охлаждения, заштрихованные – после охлаждения проростков. Группы изопероксидаз: а – «кислые», б – «щелочные», в – «нейтральные». Суммарная активность изопероксидаз принята за 100 %.

Таблица 5. Влияние низкотемпературного стресса на изменение удельной активности изопероксидаз листьев проростков пшеницы, различающихся по ИЭТ, пкат/мкг белка

Сорт	ИЭТ изопероксидаз													
	3,40	3,50	3,90	4,10	4,30	4,70	5,40	5,95	6,05	6,70	7,10	7,20	7,70	8,05
Альбидум 114	23,0 / 24,0	40,4 / 48,7	26,4 / 60,7	27,0 / 40,7	49,3 / 38,0	44,8 / 33,9	69,3 / 53,3	111,5 / 46,5	109,4 / 57,2	103,0 / 134,0	32,6 / 57,9	56,1 / 163,9	17,4 / 19,1	47,4 / 112,2
Опакс – I	33,9 / 38,2	29,8 / 30,6	29,6 / 40,8	19,8 / 48,5	38,9 / 96,7	21,4 / 43,3	68,3 / 20,5	46,7 / 34,0	80,0 / 53,7	105,8 / 149,5	77,4 / 36,6	64,1 / 171,5	130,1 / 36,3	225,9 / 149,7
Богарная 56	15,9 / 5,5	27,3 / 20,7	35,2 / 69,0	33,2 / 83,6	72,5 / 164,4	147,3 / 98,1	164,1 / 179,0	следы / 96,7	354,9 / 275,4	71,9 / 122,8	110,7 / 97,9	129,5 / 176,2	48,9 / 140,8	310,7 / 155,6

Примечание: числитель – данные до охлаждения; знаменатель – данные после охлаждения проростков. Ошибка опыта не превышает 5 %.

Качественная трансформация молекулы фермента на уровне изменений активного центра и его конформации, по всей вероятности, обуславливает увеличение удельной активности изопероксидаз в основном за счет возрастания ферментативной активности.

В таком случае содержание белка практически не меняется, либо несколько увеличивается. К числу этих пероксидаз принадлежат изоферменты с ИЭТ 3,90; 7,20; 8.05 из листьев морозостойкого сорта Альбидум 114; с ИЭТ 3,90; 4.10; 4,70 среднеморозостойкого Опакс-I и с ИЭТ 4,30; 7,70 слабоморозостойкого сорта Богарная 56.

Рост содержания белка на фоне незначительных изменений активности отдельных изопероксидаз, возможно, определен синтезом энзимов с новым качеством, обладающих повышенной чувствительностью к низким температурам. Ингибирование пероксидазной активности низкими температурами в результате значительного снижения двух ее составляющих – активности и со держания белка, отмечен для изоферментов с ИЭТ 5,95 и 7,70 у Альбидум 114; с ИЭТ 5.95; 7.10; 7.70 у Опакс-I и с ИЭТ 3.40 и 7,10 у Богарной 56.

Дендрограммы «родства» генотипов пшеницы, построенные по ИЭТ пероксидаз листьев проростков, подтвердили вывод о разнокачественности изоформ фермента, выявили более четкие различия между сортообразцами при кластеризации по величинам удельных активностей изопероксидаз после низкотемпературного стресса [137].

Вышеприведенные данные могут быть свидетельством того, что обнаруженные при ИЭФ количественные изменения, происходящие с изоформами пероксидазы при воздействии низких температур, связаны как с изменением скорости биосинтеза отдельных белков, так и с конформационными перестройками молекул фермента [122-124, 129].

3.2.2. Изопероксидазы листьев проростков глиадиновых биотипов пшеницы Богарная 56

Вопросы внутрисортовой специфичности изопероксидаз листьев в связи с устойчивостью к низкотемпературным воздействиям изучались на растениях сорта-популяции Богарная 56

и ее 11 глиадиновых биотипах, различающихся по комплексу хозяйственно ценных признаков. В данную серию опытов были вовлечены также типичные глиадиновые биотипы контрастных по морозостойкости сортов озимой пшеницы. Материал для анализов был предоставлен Абугалиевой А.И.

У сорта Богарная 56 в третьем листе до охлаждения выявлено по 12 катодных и анодных изопероксидаз. Они распределялись по группам: А-6, В и С по 3 полосы с пероксидазной активностью на электрофореграммах в ПААГ. Однако глиадиновые биотипы данного сорта по качественному составу практически не различались, но были специфичны по активности индивидуальных изоформ и их групп.

После ступенчатого охлаждения общая активность фермента увеличивалась у всех биотипов, причем, как правило, за счет катодных форм. Появились в катодных спектрах адаптивные формы (А12, В40, С67, С95), часть биотипов имела полный их набор, другие характеризовались наличием 1-2 новых полос с пероксидазной активностью после ЭФ в ПААГ.

Суммарная активность анодных форм пероксидазы у части биотипов снижалась в условиях стресса, вплоть до полной потери активности определенных изоформ.

Итак, для глиадиновых биотипов подтверждаются закономерности, выявленные при реакции на низкотемпературный стресс у контрастных по морозостойкости сортов. При этом, ясно проявлялась биотипная специфичность в характере реагирования изопероксидаз листьев на определенный режим охлаждения. О разнокачественности глиадиновых биотипов пшениц по морозоустойчивости и качеству зерна сообщают разные исследователи [46-48, 68, 72].

Количественная мера сходства – различий (родства) глиадиновых биотипов Богарной 56 и типичных глиадиновых биотипов контрастных по морозостойкости сортов озимой пшеницы, различающихся по реакции их изопероксидаз листьев на низкотемпературный стресс, достоверно определена кластерным анализом (рис. 22).

На дендрограмме показано, что типичный и другие глиадиновые биотипы Богарной 56, а также типичные глиадиновые биотипы сортов озимой пшеницы Алабасская, Альбидум 114, Мироновская 808, Безостая 1, Кавказ и Красноводопадская 210 четко

разделились на два крупных кластера. Первый кластер состоял из двух субкластеров А и Б. В субкластер А вошли только высокоморозостойкие сортообразцы (4 биотипа Алабасской, 2 – Альбидум 114 и типичный биотип Мироновской 808). Субкластер Б обьединил наряду с типичным глиадиновым биотипом среднеморозостойкой Безостой 1 ряд биотипов Богарной 56: $+\gamma_1^{70}\omega_5^{35}{}_5^{36}\text{-}\omega_3^{40}$; $+\alpha_4^{104}\beta_1^{89}\gamma_1^{70}\omega_7^{30}$; а также $+\gamma_1^{70}\text{-}\omega_8^{25}{}_8^{27}$, что может быть показателем более высокого уровня морозостойкости их – на уровне Безостой 1, по сравнению с другими биотипами Богарной 56 и популяции в целом. Второй кластер образовали типичные глиадиновые биотипы слабоморозостойких сортов, где большинство составляли биотипы Богарной 56 (субкластеры В и Г).

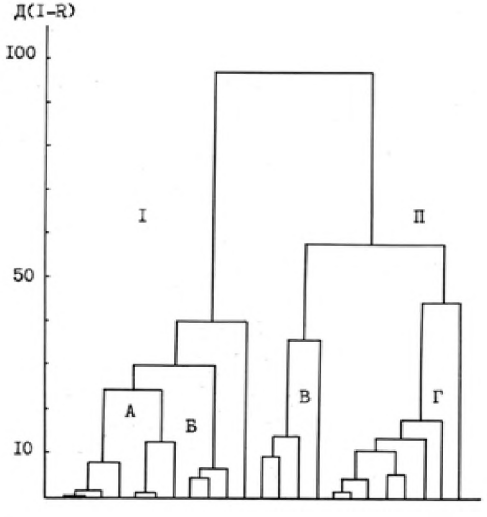


Рисунок 22. Дендрограмма родства глиадиновых биотипов сортов пшениц по реакции изопероксидаз листьев на низкотемпературный стресс

Итак, результаты кластеризации позволили по внутри- и межкластерным расстояниям судить о степени сходства-различий между глиадиновыми биотипами сортов как о количественной мере родства между ними по реакции их изопероксидаз листьев на низкотемпературное воздействие.

3.3. Разработка способов определения устойчивости пшениц к стрессовым факторам на основе активности катодных пероксидаз

Метод прижизненной оценки морозостойкости пшеницы по маркерным изоформам пероксидазы А25 и А32 листьев проростков. Известны лабораторные способы определения степени морозостойкости растений, основанные на измерении различных физиолого – биохимических показателей: выход электролитов из протоплазмы поврежденных клеток; накопление сахаров; свободного пролина; трансформация нуклеиновых кислот; наличие определенных компонентов в спектре запасного белка – глиадина; интенсивность роста и диагностика характера повреждений после промораживания в климатических камерах и другие [25, 140-144].

Однако часть этих способов трудоемка, другая использует сложную дорогостоящую аппаратуру, третья – не дает возможности получения потомства от анализируемых растений.

Целью данного прижизненного метода оценки морозостойкости является экспресс-оценка селекционного материала, основанная на усилении контрастности между показателями растений-дифференциаторов и испытуемыми образцами, а также получение потомства после анализа.

Поставленная цель достигается тем, что определение устойчивости к морозу ведут на индивидуальных растениях 20-25 дневных проростков по отношению к растениям сорта-дифференциатора в условиях контролируемого режима ступенчатого охлаждения до -5…-7 °С, измеряя активность А25 и А32 изопероксидаз третьего листа, а остальную часть растения при отборе морозостойкого генотипа оставляют прорастать до получения зрелого зерна.

Общая схема опытов по разработке данного метода представлена на рисунке 23.

Коэффициенты изменчивости вычисляли делением активности А25 и А32 изопероксидаз образца на активность соответствующих изопероксидаз сорта-дифференциатора Безостая 1 с известной степенью морозостойкости (коэффициенты изменчивости ее маркерных изопероксидаз приняты за 1). В соответствии с этим

все образцы пшеницы можно разбить на 5 групп и создать шкалу морозостойкости:

1) высокоморозостойкая группа (типа Альбидум 114)
   А25: 0,3-0.5; А32: 1,7-2,3;
2) морозостойкая группа (типа Мироновской 808)
   А25: 0,6-0,8; А32: 1,3-1,6;
3) среднеморозостойкая группа (типа Безостая1)
   А25: 0,9-1,2; А32: 0,6-1,2;
4) слабоморозостойкая группа (типа Богарная 56)
   А25: 1,3-2,0; А32: 0,2-0,5;
5) неморозостойкая группа (типа Красноводопадская 210)
   А25: >2,0; А32: 0 (следы или отсутствие).

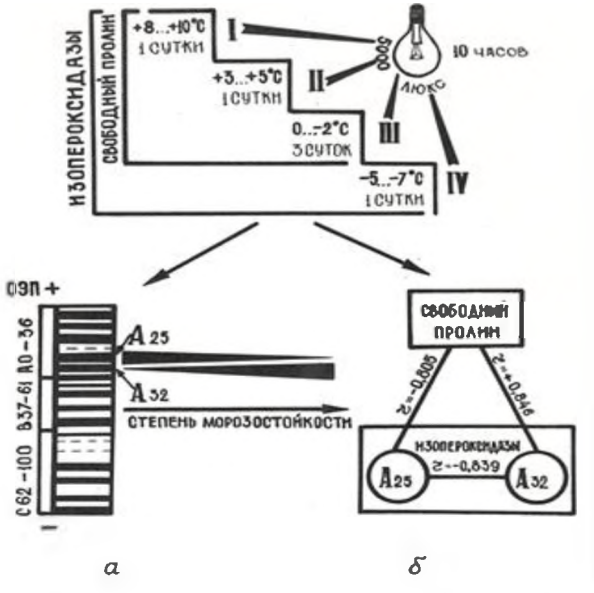


Рисунок 23. Определение морозостойкости озимой пшеницы предложенным методом: а – характер изменчивости А25 и А32 изопероксидаз третьего листа проростков; б – связь между показателями морозостойкости: А25 и А32 изопероксидаз и свободного пролина в листьях проростков

Обнаружено, что коэффициенты, рассчитанные по активности А25 и А32 изопероксидазам, противоположны по своей направленности (рис. 23а).

Апробация предложенного метода при определении морозостойкости 330 районированных сортов и селекционных образцов озимой пшеницы, сравнение полученных результатов со способом определения морозостойкости по накоплению в листьях свободного пролина [141] показали высокие коэффициенты корреляции между биохимическими показателями обоих методов (рис. 23б).

Созданный прижизненный метод оценки морозостойкости прост и надежен в исполнении, сравнительно дешев, весьма объективен, так как использует инструментальный ЭФ метод обнаружения маркерных изопероксидаз.

Перспективы использования метода в селекционной практике – оценка 500-600 образцов в год при наличии климатических камер. Разработаны рекомендации по применению данного метода в селекционной практике [145].

Способ распознавания озимых и яровых форм пшеницы. Одним из прикладных аспектов изучения маркерных пероксидаз является способ распознавания озимых и яровых форм пшеницы, защищенный Патентом РК № 8175 [146]. Выявлено, что изопероксидаза А32 свойственна лишь озимым пшеницам и не встречается у яровых в ЭФ спектрах катодных пероксидаз после охлаждения.

Цель способа – тестирование индивидуальных растений с последующим получением от них потомства, так как для анализа берут только один лист проростков. Методика выращивания растений до фазы третьего листа проростков, последующего ступенчатого охлаждения до -5…-7 °С в холодильных камерах с искусственным освещением, выделение и ЭФ катодных изопероксидаз осуществляется согласно методу прижизненной оценки морозостойкости пшеницы по маркерным изоформам пероксидазы А25 и А32 листьев проростков. Отличие заключается в том, что об озимости или яровости образцов судят по наличию-отсутствию катодного изозима пероксидазы А32 соответственно, без расчета его относительной активности.

Эта закономерность проверена на большом наборе мягких (Альбидум114, Кинельская 5, Одесская 51 и многих других) и твердых (Бахыт, Леукурум 479/79, Меркурий и другие) озимых

сортах, также мягких (Казахстанская 3(5), Саратовская 42) и твердых (Алмаз, Алтайка, Безенчукская 139) сортах яровых пшениц.

Способ определения устойчивости генотипов пшеницы к стрессовым факторам. Данный способ защищен Патентом РК №8174 [102]. Изобретение отличается тем, что, с целью повышения точности и информативности определения устойчивости генотипов пшеницы к стрессовым факторам, выращивание пшеницы осуществляют в различных экологических условиях, сравнение полученных ЭФ спектров глиадина проводят по степени изменения количественного соотношения компонентов, а в качестве дополнительного критерия используют анализ на активность катодных пероксидаз листьев проростков. Определенная степень соотношения компонентов глиадина свидетельствует об устойчивости генотипа к комплексу стрессовых факторов, активность катодных пероксидаз связана с морозостойкостью прямо пропорциональной, а с устойчивостью к патогену обратно пропорциональной зависимостью.

Способ апробирован на наборе селекционного материала КазНИИЗиР, выращенного в различных климатических условиях, в т.ч. богара, полив, и подтвердил свою результативность.

4. АМИНОКИСЛОТА ПРОЛИН И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ СТРЕССЫ

4.1. Роль пролина в обеспечении стресс-устойчивости растений

Свободный пролин (пирролидин-α-карбоновая кислота) и связанный пролин в составе белковой молекулы – обязательные компоненты растительной клетки. Это - гетероциклическая аминокислота, точнее иминокислота, содержащая гидрированное пиррольное кольцо, благодаря которому пролин имеет более высокую, чем другие аминокислоты, способность к окислительно-восстановительным превращениям [38, 147].

Растворимость пролина в воде очень велика – 162,3 г на 100 мл, что в 4,5 раза выше растворимости оксипролина, в 7-10 раз превышает растворимость глицина, треонина и аланина, в 18 раз выше растворимости валина и в 32 раза – серина. Пролин является единственной аминокислотой растворимой в спирте [147].

Увеличение концентрации пролина до 6М вызывает значительное повышение относительной вязкости водных растворов, что, видимо, объясняется образованием коллоидных продуктов. Плотность раствора пролина также растет с увеличением его концентрации, что связано с компактной упаковкой его молекул. Известно, что при понижении температуры число свободных ОН-групп в воде уменьшается с образованием многочисленных водородных связей. Водородные связи вода-пролин сильнее, чем вода-вода. В этих условиях пролин образует агрегаты в результате ступенчатого накладывания и гидрофобного взаимодействия пирролидиновых колец. Таким образом, пролиновый мультимер содержит гидрофобный стержень, окруженный по поверхности гидрофильными группами [147, 148].

Свободный пролин может способствовать растворению белков, причем гидрофобное взаимодействие пролина с гидрофобной поверхностью белковой глобулы увеличивает его гидрофильную площадь. С другой стороны, пролин препятствует осаждению

растворимых белков, типа альбуминов, такими специфическими агентами, как этанол, сульфат аммония, что, несомненно, имеет значение в условиях обезвоживания клеток при стрессовых воздействиях [149]. Такое вещество, накапливаясь в больших количествах, оказывает значительное влияние на коллоидные свойства протоплазмы, уровень обменных процессов в растительной клетке.

Значительный интерес представляет теоретический обзор Вл.В. Кузнецова и Н.И. Шевяковой [29], посвященный изучению множественной биологической роли стресс-индуцированного пролина в связи с реализацией адаптационного процесса у растений, обсуждению вопросов регуляции его анаболизма и катаболизма.

Клеточный метаболизм пролина (*Pro*) компартментализирован, в то время как его синтез происходит в основном в цитозоле, а катаболизм – в хлоропласте и митохондриях. Биосинтез может осуществляться через глутаматный, либо орнитиновый путь. Однако, признано, что глутаматный является основным путем синтеза пролина, особенно в условиях стресса [150].

Один из первых обобщающих трудов по выяснению биологической роли пролина в растениях опубликован во второй половине прошлого столетия и принадлежит Е.А. Бритикову (1975) [147]. Им экспериментально установлено, что пролин принимает участие в целом ряде общих реакций метаболизма: он способен активировать дыхание растительных тканей, регулировать поглощение кислорода, быть донором NH_2 – групп при синтезе некоторых аминокислот и усиливать синтез хлорофилла, что впоследствии доказано другими авторами [151-153].

Многие исследователи сходятся во мнении, что, как соединение со сравнительно небольшой молекулой, пролин может быть существенным осмотическим фактором клетки [38, 147, 148].

В клеточных оболочках растений синтезируется белок экстенсин, составляющий приблизительно 5 % сухой массы. В среднем на долю связанного пролина приходится до 20 % аминокислотного состава этого «каркасного» для клетки белка. Гидроксилирование пролина происходит уже после образования пептидных связей. Экстенсин глюкозидной связью соединен с молекулами гемицеллюлоз и существует в виде закрученной влево спирали. В

функциональном отношении он выполняет важную роль, определяя рост и направление полисахаридных волокон. Благодаря связанному пролину такие структуры могут противостоять колоссальной осмотической силе, приблизительно равной 20000 кг/см^3, что существенно для сохранения клеточных структур в условиях сильного обезвоживания, переохлаждения и т.д. [149].

Опытами с ^{14}C – пролином показано, что он быстро вовлекается в окислительный обмен даже при наличии углеводов [147], легко транспортируется по тканям и органам [153, 154], что, вероятно, делает его более конкурентоспособным по сравнению с другими веществами низкомолекулярной и ферментативной природы в проявлении метаболической активности у растений в периоды покоя и при стрессовых воздействиях.

Авторы распространенного в лабораторной практике метода определения пролина L. Bates et al. (1973) [155] наблюдали многократное, в десятки, иногда сотни раз, возрастание содержания данной аминокислоты в листьях проростков сорго в условиях засухи.

Впоследствии многими учеными подтвержден факт накопления пролина при действии различных абиотических стрессоров, нередко действующих в естественных природных условиях в комплексе: водный дефицит [156], низкие [121] и высокие температуры [151], засоление [152], ТМ [157, 158] и т.д.

По мнению U.K. Ghosh et al. (2022) пролин рассматривается как «многогранная» сигнальная молекула в реакциях растений на абиотические стрессы. Благодаря своим свойствам хелатора металлов он действует как молекулярный шаперон, антиоксидантная защитная молекула, которая удаляет АФК, а также участвует в передаче сигналов для активации определенных функций генов, необходимых для восстановления растений после стрессов. Значительное увеличение или, как называют авторы, «перепроизводство» пролина в растительных клетках способствует поддержанию клеточного гомеостаза, осмотической регулировки и окислительно-восстановительного баланса для смягчения окислительного повреждения [38, 153].

A. Sharma et al. (2019) и M. Meena et al. (2019) высказываются в пользу существования синергетических эффектов взаимо-

действия свободного пролина с растворами сахаров, а также гормонами при температурных воздействиях [159, 153]. Так, пролин положительно коррелирует с доступностью ионов кальция и хлорида, АБК, азотистыми основаниями, ионами серы, что в целом, способствует значительному повышению толерантности растений к высоко – и низкотемпературному стрессам [153, 160-162].

S.-I. Park et al. (2021) в экспериментах по влиянию комбинированного стресса, вызванного жарой и засухой зафиксировали повышенную экспрессию гена биосинтеза пролина P5CS1 на уровне вегетативной стадии роста растений и в семенах риса [163].

Заслуживают внимания результаты опытов с трансгенными растениями, которые отличаются сверхэкспрессией генов, аккумулирующих пролин, и демонстрируют лучшую адаптацию к абиотическим стрессам [38]. Ряд исследований посвящен экзогенной обработке пролином зерновых и других культур для повышения их стресс-устойчивости [164,165].

В обзоре A. Raza et al. (2022) представлены многочисленные литературные данные по оценке функций пролина в высших растениях при экстремальных температурах [148]. Авторы приводят схему пролинопосредованной толерантности расте-ний к температурному стрессу, которая достаточно емко отражает современный взгляд на рассматриваемую проблему (рис. 24).

Уникальная химическая структура позволяет пролину выделяться среди других аминокислот своими физическими и физико-химическими особенностями, что объясняет и во многом определяет его использование в качестве физиолого-биохимического показателя стресс-устойчивости растений и интегрального свойства сельскохозяйственных культур – общей адаптационной способности [54].

Теоретической базой для применения пролина в качестве диагностического показателя устойчивости растений к экстремальным воздействиям среды служит закономерность действия всех стрессов через прекращение ростовых процессов той или иной интенсивности [9,149].

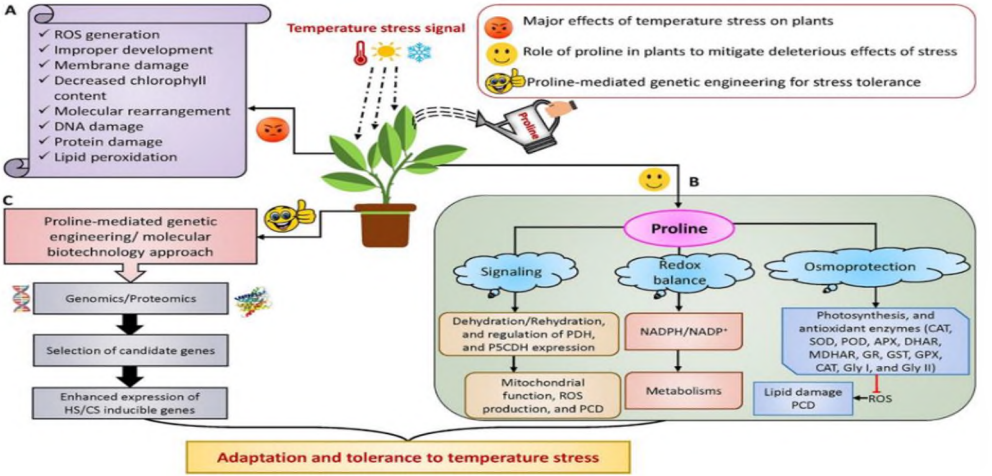


Рисунок 24. Пролин-опосредованная толерантность растений к температурному стрессу по A. Raza et al. (2022) [148]

(A) Основные эффекты температурного стресса у растения, которые в конечном итоге снижают общий рост и продуктивность растений;

(B) Защитная роль пролина в смягчении неблагоприятных последствий температурного стресса. Пролин напрямую участвует в сигнальных сетях, помогает поддерживать окислительно-восстановительный баланс, как поглотитель АФК, и служит осмопротектором;

(C) Пролин-опосредованная генная инженерия генов, кодирующих пролин и связанных с температурным стрессом. Этими генами можно манипулировать с использованием различных подходов, таких как сверхэкспрессия, нокаут через систему CRISPR/Cas и т. д.

Такой факт подтверждается работами многих авторов на различных растительных объектах [2, 20, 166]. Интенсивность роста связана с биосинтезом экстенсина. Приостановка роста в стрессовых условиях приводит к торможению синтеза этого белка клеточных стенок, что влечет за собой накопление нереализованного свободного пролина, в норме расходуемого на построение молекул экстенсина [149].

Исследования показали, что концентрация пролина меняется в зависимости от продолжительности стресса и онтогенетической стадии растения [117, 160, 167].

Резюмируя мнения различных авторов постулируем центральную роль аминокислоты пролина в метаболизме растений переживающих различные изменения внешней среды, а следовательно возможности использования его, как одного из ведущих критериев в распознавании генотипов по приспособленности к стрессовым факторам и диагностики уровня их устойчивости (рис. 25).

Рисунок 25. Роль пролина в диагностике устойчивости к стрессовым факторам внешней среды

Полифункциональный биологический эффект пролина проявляется не только в осморегуляторной и протекторной функциях, но также в антиоксидантной, энергетической, сигнальной и других, обеспечивающих у растений поддержание клеточного гомеостаза на стадии стресс-реакции и при переходе в новое адаптивное состояние – специализированную адаптацию [29, 54].

В этой связи сравнительный анализ содержания свободного пролина в проростках и зерне различных колосовых культур,

сортов и диких сородичей, является весьма перспективным для оценки уровня проявления их адаптационных возможностей при создании гибридных комбинаций, отборе ценных генотипов по комплексу хозяйственно-полезных признаков и свойств. Вовлекая в исследования широкий спектр селекционного материала, в том числе диких сородичей и гибридных комбинаций на их основе с культурными формами, чрезвычайно важно выявить специфичность в накоплении пролина растениями различных зерновых культур под действием стрессовых факторов, таких как низкие температуры, влияние засухи, различных солей и ТМ, а также в зависимости от агроклиматических условий года выращивания, уровня водоснабжения и минерального фона посевов.

Содержание свободного пролина во всех экспериментах определяли согласно методике L.S. Bates et al. [155] в листьях проростков, либо с модификациями метода для зерна [50].

4.2. Пролин проростков озимой пшеницы и устойчивость к низкотемпературному стрессу

Несмотря на внимание исследователей к многофункциональной роли пролина в растениях и выяснению механизма его осмотической регуляции, все еще недостаточно экспериментальных работ по применению пролина для диагностики степени морозоустойчивости и дифференцировки уровня ОАС зерновых культур с целью дифференцировки генотипов устойчивых к стрессам.

За основу был взят «Способ оценки морозостойкости озимой пшеницы» [141], апробированный на более широком наборе генотипов озимой пшеницы.

В лабораторных опытах по влиянию низких положительных и субнулевых температур на растения в диапазоне от +10 до -2 °С коэффициент накопления пролина в листьях проростков был в 3 и более раз выше у известных по морозоустойчивости сортов Алабасская, Альбидум 114, Мироновская 808. Содержание пролина в клетках слабо устойчивых сортов повышалось лишь с коэффициентом, не превышающим 1,3, что наблюдалось для Красноводопадской 210, Алматинской полукарликовой. Установленная закономерность позволила определить уровень морозоустойчивости других сортов, таких как Кинельская 5, сортов местной

селекции Прогресс, Богарная 56, Карлыгаш и сортообразцов из питомника конкурсного сортоиспытания КазНИИЗиР: Г-4414-20; Г-6641-15; Г-4403-37 и другие (рис. 26) [168].

На использование пролина в качестве диагностического показателя толерантности видовых и сортовых различий у пшеницы при совместном действии стрессовых факторов, таких как температурный и засоление, указывается в статье Ю. Кенес и И. Онсел [169]. Большая интенсивность накопления свободного пролина на стадии проростков во время стресса наблюдалась у засухоустойчивых форм, причем эта тенденция сохранялась на всех этапах развития растений ячменя [170].

Как правило, действие различных стрессоров абиотической природы, в частности низких температур, сопровождается обезвоживанием клетки. В условиях водного дефицита мобилизуются внутриклеточные водоудерживающие механизмы, среди которых чрезвычайно активен эндогенный пролин, обладающий высоким гидрофильным потенциалом.

Анализируя имеющиеся теоретические и экспериментальные данные, можем представить защитно-осмотическое действие пролина следующим образом. Молекулы гидрофильного пролина не только связывают воду, препятствуя ее оттоку из клетки к центрам внеклеточного льдообразования (действие низких температур, мороза) или вследствие испарения (действие высоких температур, засуха), а также осмотического действия солей (засоление), но и благодаря своей пространственной гетероциклической структуре позволяют «заменить» приблизительно 3,6-3,8 молекул воды [147], сохранять гидрофильное окружение биоколлоидов, а значит препятствовать их денатурации [160].

Данные диагностики низкотемпературной устойчивости сортов пшеницы по показателю накопления свободного пролина имеют высокий уровень положительной корреляции (0,81-0,85) с оценкой морозоустойчивости генотипов пшеницы предложенным нами методом по изменчивости маркерных изопероксидаз листьев, глава 3.3. Уровень накопления свободного пролина в листьях проростков прямо пропорционален активности А32 и обратно пропорционален А25 изопероксидаз, что совпадает с выводами других работ по индикации стресс-устойчивости по изменениям в содержании свободного пролина и пероксидазной активности [121, 160, 171].

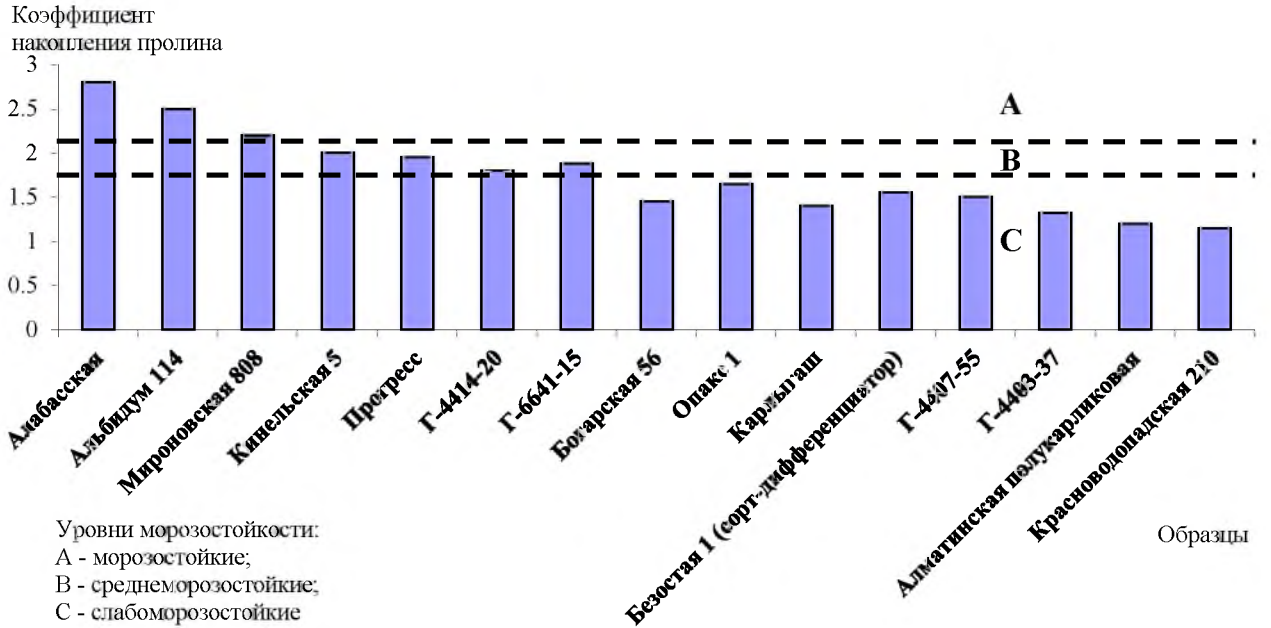


Рисунок 26. Дифференцировка уровня морозоустойчивости сортов и сортообразцов озимой пшеницы по коэффициенту накопления свободного пролина в листьях проростков под влиянием низкотемпературного стресса

Таким образом, сопряженность таких показателей, как содержание свободного пролина и активность фермента пероксидазы в листьях проростков зерновых культур, а также каждый из этих показателей в отдельности, могут быть использованы в качестве критериев для распознавания генотипов – сортов, биотипов, линий, гибридов к низкотемпературному стрессу и характеристики уровня их морозоустойчивости [171].

Вклад низкотемпературной устойчивости в формирование адаптивного потенциала озимых зерновых культур чрезвычайно высок, что обуславливает целесообразность использование данных показателей в характеристике ОАС пшеницы и других зерновых культур.

4.3. Пролин в дифференцировке озимых и яровых форм ячменя

В настоящее время известны две основные генетические системы (*Vrn* и *Ppd*), влияющие на проявление типа развития растений. Способность зерновых колосовых к репродуктивному развитию связана с функционированием генов *Vrn* (vernalization - ответ на яровизацию) и *Ppd* (photoperiodic – чувствительность к фотопериоду) [172]. Безусловно, эти генетические системы влияют на адаптивные свойства растений.

У озимой формы пшеницы и других колосовых культур гены обеих систем развития находятся в рецессивном состоянии – *vrn vrn ppd ppd*. Такой генотип вызывает обязательную потребность в яровизации и длинном дне. У яровых отсутствует потребность в яровизации (доминантные аллели *Vrn*), также они способны развиваться и при коротком, и при длинном световом дне (доминантные аллели *Ppd*). У мягкой пшеницы описано и локализовано в хромосомах пять доминантных *Vrn* и не менее трех доминантных генов *Ppd* [172]. А.Ф. Стельмах (1986) считает, что у яровых сортов этого вида доминантные гены *Vrn* обуславливают наибольший вклад в различия по длине вегетационного периода [173]. У пшениц-двуручек в генотипе перекомбинированы две указанные генетические системы: доминантные аллели *Vrn*, как у яровой, сочетаются с рецессивными аллелями *ppd*, как у озимой [174].

Очевидно, что подобная ситуация свойственна и ячменям-двуручкам, т.е. тем сортам, которые использовались в большинстве наших экспериментов – Береке 54, Байшешек, Южно-Казахстанский 43 и другим. Этим фактом объясняется значение двуручек для решения ряда теоретических вопросов генетики пшеницы, в частности озимости – яровости, а также для практических целей, поскольку такие особенности позволяют двуручкам проявлять широкие адаптивные способности.

Установлено, что средние значения содержания пролина в зерне озимых форм почти в 2,5-3 раза выше, чем у яровых для всех изучаемых образцов ячменя (рис. 27).

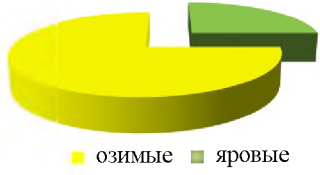


Рисунок 27. Различия озимых и яровых форм ячменей-двуручек по содержанию пролина в зерне

Показано участие системы циклического аденозинмонофосфата в действии фитохрома, являющегося рецептором фотопериодизма, влияние фитогормонов – цитокининов, гиббереллинов на процесс яровизации [175]. С другой стороны, известны работы по гормональной регуляции накопления пролина и пероксидазной активности у растений [153, 159], что является опосредованным свидетельством связи метаболизма этих соединений с генетическими системами, контролирующими тип растительного развития.

Наблюдаемые нами различия в содержании пролина в зерне ячменя в связи с озимостью и яровостью отражают специфику метаболизма организмов различного типа развития и косвенно подтверждаются Патентом РК 8175 «Способ распознавания озимых и яровых форм пшениц» по присутствию маркерной катодной изопероксидазы листьев проростков, раздел 3.3 [146].

Полученные результаты могут служить дополнительным критерием для дифференцировки зерновых культур по озимости и яровости с целью создания эффективных способов распознавания и отбора наиболее ценных генотипов по типу развития, например, перед посевом.

4.4. Пролин в диагностике засухоустойчивых линий пшеницы

Засухоустойчивые формы имеют механизмы защиты, способствующие в условиях стресса поддержанию достаточно высокого уровня физиологических процессов растений. Эти механизмы предотвращают обезвоживание клетки за счет накопления низкомолекулярных гидрофильных белков, связывающих значительное количество воды, взаимодействия клеточных биоколлоидов с пролином, концентрация которого значительно возрастает, а также увеличения моносахаров, обеспечивающих детоксикацию продуктов распада [156, 166]. Воздействие засухи и по-вышенной засоленности почв на растительный организм во многом связано с возникновением водного дефицита, а индикатором гиперосмотических стрессов выступает свободный пролин [38].

Усилия селекционеров направлены на получение новых засухоустойчивых сортов пшеницы, отличающихся высококачественными урожаями, а значит ОАС. Однако достигнуть результата за короткий срок для различных экологических зон республики довольно сложная задача. Альтернативой являются биотехнологические способы получения перспективных форм пшеницы, устойчивых к абиотическим факторам. Например, сочетание гаплоидной технологии и клеточной селекции позволяет с одной стороны, расширить генетическое разнообразие высокоустойчивых к стрессам форм пшеницы, с другой стороны, за короткий срок эффективно отобрать устойчивые к конкретному стресс-фактору гомозиготные формы пшеницы [176]. Используя данные способы, С.К. Турашевой были получены в условиях *in vitro* засухоустойчивые клеточные и дигаплоидные линии мягкой пшеницы, которые использовались в данной серии опытов. Полиэтиленгликоль (ПЭГ), применяемый как осмотик, имитирующий засуху в искусственных условиях, оказал меньшее стрессовое воздействие, чем сахароза. При выращивании на стрессовом фоне уровень накопления пролина у дигаплоидов возрастал по сравнению с контролем в 3-9 раз (табл. 6).

Таблица 6. Содержание свободного пролина в условиях искусственной засухи (на фоне осмотического стресса)

Генотип	Концентрация свободного пролина, мМ / г		
	Контроль	20 % раствор сахарозы	10 % раствор ПЭГ
Отан	12,8 ± 2,6	48,8 ±9,6	22,2±4,4
Актюбинская 130	9,3± 2,6	31,2±6,3	12,2±1,9
Актюбинская 130 х Отан	12,2 ±2,4	31,8±6,4	12,2 ±2,5
ДГ07/5-8-1	6,2±1,3	35,0±7,0	7,1±1,5
ДГ07/5-17-6	2,5±0,5	35,0±6,8	7,1±1,4
ДГ07/5-13	10,5±3,5	34,5±11,5	15,2±5,1

При сравнении дигаплоидных линий с донорной гибридной линией Актюбинская 130 х Отан при осмотическом стрессе концентрация пролина увеличилась в среднем в 1,5 раза, причем 20 % раствор сахарозы во всех случаях оказывал более сильное влияние, чем 10 % раствор ПЭГ. Для дигаплоидной линии ДГ07/5-8-1 на фоне ПЭГ концентрация пролина была в пределах контроля, также как у его исходной гибридной формы. Для дигаплоида ДГ07/5-17-6 содержание свободного пролина возрастало более значительно: на фоне ПЭГ - в 3 раза, сахарозы – в 14 раз. Другие линии ДГ07/5-8-1 и ДГ07/5-13 проявляли менее выраженный эффект накопления пролина при действии осмотических стрессов.

Известно, что адаптация пшеницы к возрастающим концентрациям осмотиков зависит от уровня накопления сахарозы в листьях [177]. Возможно, что пролин и сахароза могут усиливать действие друг друга, что объясняет факт значительного увеличения в содержании пролина в листьях проростков, выращенных на сахарозе.

В условиях засухи синтез пролина активируется предположительно накоплением АБК, что способствует запасанию гидратной воды в клетке, а также снижению синтеза цитокинина [153, 159].

В отношении родительских форм дигаплоидные линии показывают свое превосходство по уровню накопления пролина. Коэффициент изменчивости в содержании пролина в соотношении опыт/контроль на 20 % сахарозе составляет у сорта Отан –

3,82, а у дигаплоида ДГ 07/5-17-6 – 14,0 соответственно (рис. 28). Для родительского сорта Актюбинская 130 этот коэффициент – 2,57, тогда как гибридная форма занимает промежуточное положение среди исходных линий по коэффициенту изменчивости в содержании пролина в системе опыт/контроль – 2,61.

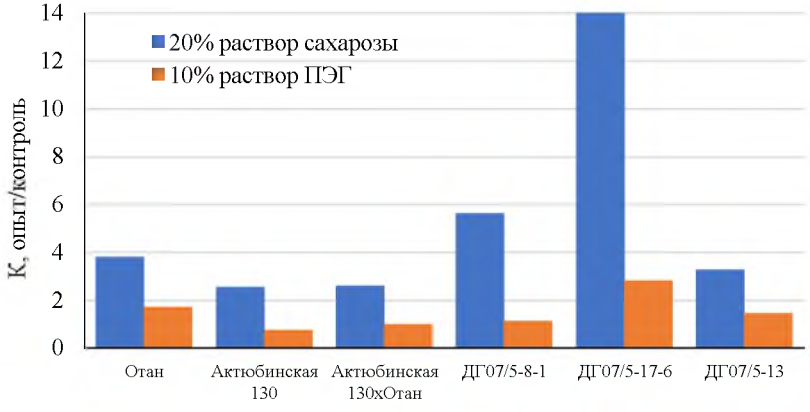


Рисунок 28. Коэффициент изменчивости (К) в содержании пролина – опыт/контроль

В порядке убывания коэффициента изменчивости по пролину под влиянием стресса, вызванного 20 % сахарозой, дигаплоидные линии можно расположить следующим образом:

ДГО7/5-17-6(14,0)> ДГ07/5-8-1(5,64)> ДГО7/5-13(3,28)

Показано, что на фоне 10 % ПЭГ лидирующее положение занимала эта же дигаплоидная линия, а убывание коэффициента изменчивости в накоплении пролина выглядит следующим образом:

ДГО7/5-17-6(2,84)> ДГО7/5-13 (1,45)> ДГ07/5-8-1(1,14)

В другой серии опытов по испытаю дигаплоидных линий на действие холодового стресса (+5…+7 °С в течение 4 часов) также наблюдалось повышение уровня свободного пролина в обоих вариантах опытов. При этом, содержание аминокислоты в условиях действия пониженных температур в два и более раз превышало таковое для ПЭГ.

Изучаемые растения характеризовались генотипической специфичностью в реагировании на действие вышеуказанных стрессовых факторов, что обуславливалось различным содержанием пролина в листьях. Выделилась линия ДГ07/5-17-6, характеризующаяся большей способностью индуцированного накопления пролина, а значит и более развитой адаптивной ответной реакцией на стрессы.

Соотнесение результатов по пролину с другими показателями, таким как всхожесть и прорастание зерен, интенсивность ростовых процессов, морфологические особенности листьев и стеблей, накопление сырой биомассы при повышенном осмотическом давлении, а также водоудерживающая способность в условиях водного дефицита, свидетельствуют о хорошей адаптации рассматриваемых дигаплоидных линий к засухе. Это наиболее полным образом раскрывает сложную физиолого-генетическую природы данных признаков и создает возможность распознать дигаплоидные линии пшеницы устойчивые к стрессовым воздействиям внешней среды [176].

4.5. Пролин в распознавании генотипов пшеницы по устойчивости к тяжелым металлам

Известны способы определения устойчивости растений к ТМ [178, 179], основанные на измерении отношения биомассы опытных и контрольных образцов или торможения ростовых процессов у растений, выращенных в условиях металлического стресса. Они отличаются сложностью исполнения, отсутствием ранней диагностики, либо невысокой степенью дифференцировки между образцами.

Ранее нами показана возможность распознавания генотипов пшеницы к действию солей меди, цинка и кадмия [180]. Для определения влияния ТМ на интенсивность прорастания 7-ми дневных генотипов пшеницы корни и проростки растений срезали и измеряли суммарную длину корешков и проростов, сравнивая их с аналогичными показателями контрольных растений. Недостатками вышеизложенного способа являются его трудоемкость и невозможность использования растений в дальнейшем для селекционной практики.

Установлена биологическая роль свободного пролина в качестве информативного критерия устойчивости пшеницы к действию стрессовых факторов внешней среды, таких как солеустойчивость, морозоустойчивость и другие [141, 181]. Однако, проведенный патентный поиск с глубиной более 20 лет по разным странам мира показал, что не существует зарегистрированных в реестре изобретений способов применения свободного пролина в качестве диагностического показателя устойчивости пшеницы и других зерновых культур к ТМ [182].

Разработанный «Способ распознавания генотипов пшеницы по устойчивости к тяжелым металлам» включает выращивание растений на растворе 0,1мМ сульфата кальция ($CaSO_4$) в присутствии 20 мг/л солей тяжелых металлов – меди (Cu^{2+}) или кадмия (Cd^{2+}), или цинка (Zn^{2+}), последующее определение устойчивости растений, выращенных в присутствии ТМ и без них, и отличается тем, что с целью повышения объективности анализа и получения потомства устойчивых генотипов, определение устойчивости растений осуществляют по соотношению накопления свободного пролина в первом листе двухнедельных проростков опытных и контрольных растений. Для распознавания генотипов пшеницы по устойчивости к тяжелым металлам использовали сорта озимой и яровой пшеницы, гибридные формы озимой пшеницы с дикими сородичами по методике, изложенной в описании к Патенту РК 3044 [182].

Устойчивость к ТМ генотипов пшеницы определяли по накоплению свободного пролина в соотношении опыт/контроль (табл. 7).

Таблица 7. Накопление свободного пролина в листьях проростков пшеницы, выращенных на фоне солей ТМ (контроль принят за 100 %)

Генотипы пшеницы	Накопление свободного пролина, % к контролю		
	Cu^{2+}	Zn^{2+}	Cd^{2+}
Безостая 1	205	240	280
Эритроспермум 350	290	230	266
Карлыгаш	230	280	244
Казахстанская 10	180	195	220
Саратовская 29	194	224	200
Безостая1 х *Ae. cylindrica*	350	376	345
Эритроспермум 350 х *T. militinae*	338	360	325

Для сравнения приводим результаты работы [180] по определению устойчивости генотипов пшеницы к солям ТМ по интенсивности прорастания корней и побегов в соотношении опыт/контроль (табл. 8).

Таблица 8. Интенсивность прорастания корней и побегов пшеницы при выращивании на фоне солей ТМ (контроль принят за 100 %)

Генотипы пшеницы	Рост корней, % к контролю			Рост побегов, % к контролю		
	Cu^{2+}	Zn^{2+}	Cd^{2+}	Cu^{2+}	Zn^{2+}	Cd^{2+}
Безостая 1	118	130	112	106	124	109
Эритроспермум 350	125	120	110	115	118	105
Карлыгаш	122	121	105	112	130	98
Казахстанская 10	98	119	108	103	106	94
Саратовская 29	112	118	94	108	114	92
Безостая1 х *Ae. cylindrica*	120	128	118	132	140	125
Эритроспермум 350 х *T. militinae*	130	140	116	124	133	112

Анализ таблиц 7 и 8 свидетельствует, что данные по накоплению свободного пролина в листьях проростков на фоне действия металлического стресса, вызванного солями меди (Cu^{2+}), цинка (Zn^{2+}) и кадмия (Cd^{2+}) дают более показательные результаты, показывают существенную дифференцировку между генотипами.

Предлагаемая методика делает анализ более точным и информативным, т.к. использует инструментальный подход для дифференцировки генотипов пшеницы по устойчивости к ТМ, а именно, определение физиолого-биохимического показателя стресс-устойчивости растений – соотношение в накоплении свободного пролина в листьях проростков пшеницы, испытывающих металлический стресс, и контрольных растений.

Данный способ позволяет более объективно производить распознавание генотипов пшеницы по устойчивости к ТМ, а определение свободного пролина в одном – первом листе двухнедельных проростков способствует сохранению корней и проростков для дальнейшего прорастания, пересадке в грунт и получению потомства устойчивых генотипов.

4.6. Накопление пролина в зерне различных зерновых культур

Сравнение зерновых культур по содержанию пролина в зерновке. Адаптивный потенциал зерновых культур весьма различен, что подтверждается многими авторами [10, 79, 86]. Известно, что запас резервных метаболитов во многом проецирует траекторию жизнеспособности и функциональных возможностей растений, его поглотительную активность, чувствительность к почвенному плодородию, устойчивость при перенесении неблагоприятных воздействий окружающей среды и т.д. Количественные и качественные характеристики запасных питательных веществ, уровень и направленность метаболических превращений индивидуума обусловлены генотипом. Поэтому определение содержания свободного пролина в зерне, рассматриваемого в качестве элемента будущего роста и развития, в реализации потенциальных возможностей генотипов является перспективным.

Условия проведения полевых опытов в сухостепной зоне Акмолинской области в 2001-2004 гг., данные дисперсионного и кластерного анализа описаны в работе [183].

Установлено, что накопление свободного пролина в зерне различных сельскохозяйственных культур подчиняется следующей закономерности:

ячмень > тритикале > пшеница

Так, средние значения содержания пролина в зерне ячменя в 3-4 раза превышали таковые для тритикала и 5-7 раз – для пшеницы (рис. 29).

Средние значения пролина в зерне ржи превышали в 1,6-1,8 раз таковые для тритикале, более чем в 2,0-2,2 раза для пшеницы.

Кластеризация по минимуму произведения Д·(1-R) четко обозначило три кластера, в первый вошли сорта ржи, во второй – коллекционные образцы тритикале, а в третий - различные сорта пшеницы и тритикале сорта Таза, как показано [183].

Для озимых форм наиболее четко наблюдалась видовая специфичность по исследуемому показателю:

рожь > тритикале > пшеница

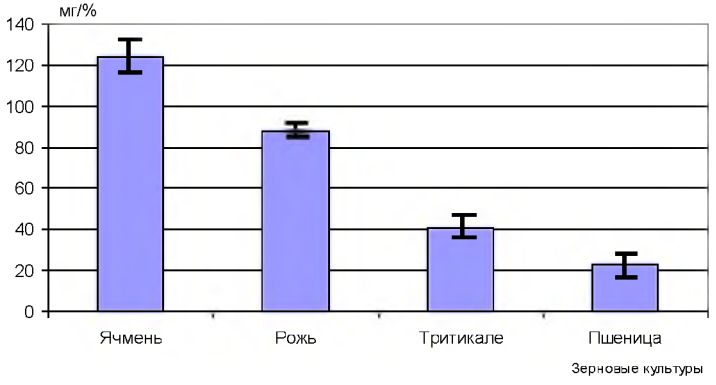


Рисунок 29. Содержания свободного пролина в зерне озимых форм различных зерновых культур (средние значения)

Обнаружены сортовая и в зависимости от условий года выращивания специфичность в накоплении пролина у исследуемых культур. Содержание пролина варьировало в анализируемые годы у различных сортов озимых зерновых культур в пределах: 33-127 мг·% у пшеницы, 110-154 мг·% у ржи и 45-143 мг·% для тритикале.

В умеренные по погодным условиям годы наименьшее накопление пролина в зерне наблюдалось для сорта Таза и некоторых коллекционных образцов тритикале, наибольшее – у пшеницы сорта Мироновская 808. Повышение температуры, уменьшение осадков и относительной влажности воздуха в засушливые годы способствовало накоплению пролина в зерне анализируемых культур.

Результаты дисперсионного анализа показали, что фактор А, обозначающий «среда и климатические условия года выращивания» влияют на показатели пролина в зерне на 15,1 %, доля фактора В «генотип или культура (рожь, тритикале, пшеница» выше и находится на уровне 32,5 %, при этом доля взаимодействия факторов АВ «генотип х среда» проявляется достаточно явно и составляет 52 % [183].

Содержание пролина в зерне было выше на фоне применения удобрения (P_{60}), что характерно для всех зерновых культур. Под влиянием фосфора коэффициент накопления свободного пролина

по сравнению с контрольными растениями составил для озимой пшеницы 1,0-3,16; озимой ржи 1,4-1,6; озимого тритикале 1,8-2,0. Это свидетельствует о хорошей отзывчивости культур на применение удобрений (рис. 30).

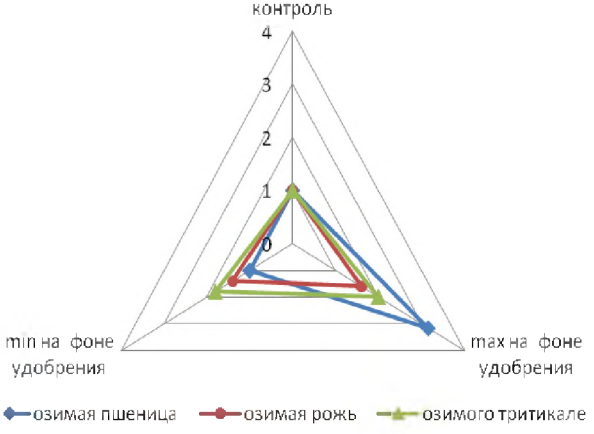


Рисунок 30. Увеличение в накоплении пролина в зерне сельскохозяйственных культур под влиянием минерального удобрения (P_{60})

Данные особенно четко проявляются в относительно засушливый год, что сопоставимо с представлением о роли фосфорных удобрений в ослаблении вредоносного влияния засухи на посевы зерновых, повышении их устойчивости к обезвоживанию. Это объясняется увеличением количества коллоидно-связанной воды и повышением устойчивости протоплазмы клетки, снижением потери воды на транспирацию под влиянием фосфора [24, 39, 166].

Эксперименты свидетельствуют о хорошей отзывчивости культур на минеральное питание, роли фосфорных удобрений в ослаблении влияния экстремальных факторов на растения. Таким образом, минеральное удобрение способствует наиболее полному раскрытию ОАС, что оценивается по увеличению накопления пролина в зерне исследуемых культур.

Полученные данные подтверждают мысль о целесообразности использования показателя «накопление свободного пролина» в

зерне в качестве информативного критерия ОАС зерновых культур в распознавании наиболее ценных генотипов.

Содержание пролина в зерне диких, культурных и гибридных форм ячменя. Обнаружено, что сорта – стандарты культурного ячменя характеризовались меньшим диапазоном изменчивости в содержании пролина, чем израильские и туркменские популяции диких сородичей.

Популяции диких форм ячменя *H. spontaneum* K., включая популяции aruar и star были собраны в Израиле и Туркменистане [82] и предоставлены Е. Туруспековым для анализов. Установлена тенденция высокого содержания свободного пролина в зерне *H. spontaneum* K. из Израиля (рис. 31). По средним значениям содержания свободного пролина сорта-стандарты, такие как Южно-Казахстанский 43, Береке 54, Байшешек, занимали промежуточное положение между израильскими и туркменскими популяциями (рис. 32). Полученные нами данные согласуются с результатами работ [170, 183], подтверждающими факт значительного варьирования уровня свободного пролина в зерне у сортов и линий ячменя, пшеницы и других растений.

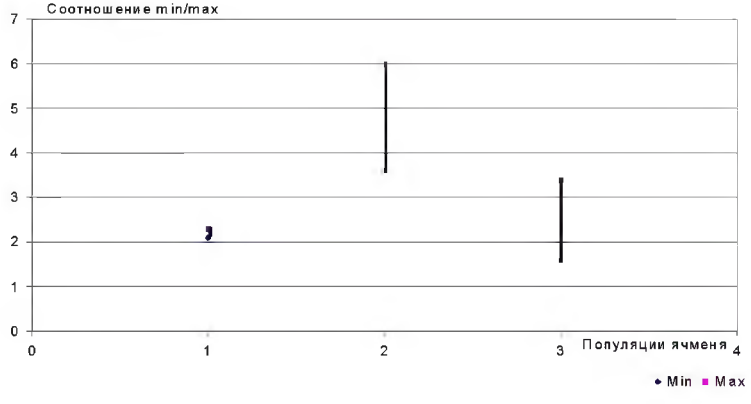


Рисунок 31. Диапазон изменчивости в содержании пролина культурных и диких форм ячменя
1 – Сорта-стандарты *H. vulgare* L.; 2 – *H. spontaneum* K. из Израиля; 3 - *H. spontaneum* K. из Туркменистана

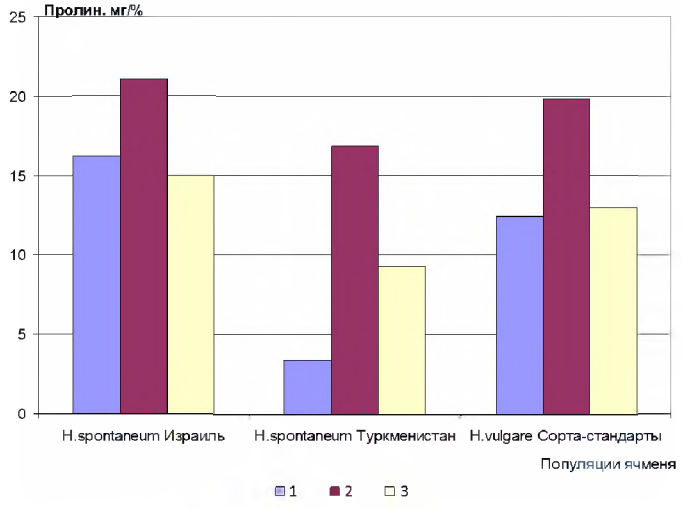


Рисунок 32. Среднее значение содержания свободного пролина в популяциях дикого и культурного ячменя
1 – 1-ый год репродукции; 2 – 2-ой год репродукции; 3 – 3-ий год репродукции

Содержание пролина в зерне диких форм ячменя из Израиля в 1-ый год репродукции варьировало от 0,026 мг/мл у линии I 3/3, до 0,113 мг/мл для линии I 6/20 на фоне среднего 0,061 мг/мл. Диапазон изменчивости содержания пролина в зерне *H. spontaneum* из Туркменистана значительно ниже: от 0,011 мг/мл для линии Т 4/6 до 0,037 для линии Т 3/5. В урожае 2-го года репродукции содержание пролина в зерне отмечено на более высоком уровне: от 0,097 мг/мл (I 6/3) до 0,350 для (I 2/6) для израильских и от 0,163 (Т 3/7) до 0,262 мг/мл (Т 5/2) для туркменских линий. Данные по средним значениям содержания пролина в зерне гибридных комбинаций в сравнении с родительскими формами представлены на рисунке 33.

Гибридные комбинации получены на основе линии *H. spontaneum* 709 из Израиля, выделившейся в числе лучших по хозяйственно-полезным свойствам. Наибольшее количество свободного пролина в зерне отмечено у гибридов *H. spontaneum* 709 х Береке 54.

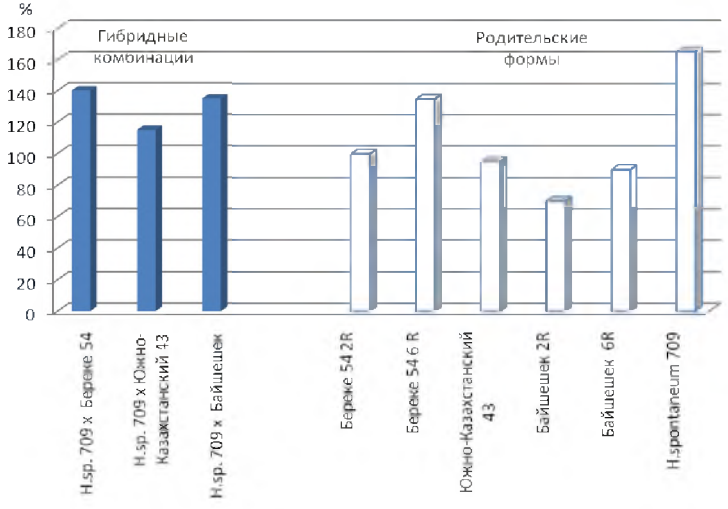


Рисунок 33. Содержание свободного пролина в зерне гибридных комбинаций и родительских форм двух лет репродукции. Накопление пролина сортом-стандартом Береке 54 2R принято за 100 %

Данные рисунка 33 показывают, что в гибридных комбинациях содержание пролина превышает таковой показатель сортов в среднем в 1,2-1,4 раза, но ниже дикой родительской формы *H. spontaneum* 709 в среднем в 1,15-1,45 раз. Таким образом, можно констатировать факт наследования признака накопления пролина в зерне у гибридов по промежуточному типу и/или уклонения в сторону лучшего из родителей.

Жесткие погодные условия стимулировали увеличение содержания пролина в зерне исследуемых форм ячменя. Как правило, уровень свободного пролина был выше при выращивании ячменя на богаре, по сравнению с орошаемым посевом. Например, содержание пролина в зерне сорта Береке 54, выращенного в богарных условиях, в 0,7-1,2, а у линий I_2/1-5 из числа диких форм из Израиля в 0,9-1,7 превышало таковой показатель на орошении (рис. 34).

Репродукции урожая второго года исследования как диких, так и культурных ячменей, отличались более высокими показателями содержания пролина в зерне, что, на наш взгляд, связано с достаточно засушливыми условиями этого года.

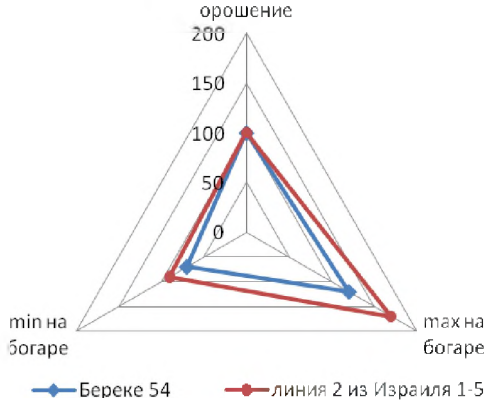


Рисунок 34. Содержания пролина в зерне диких и культурных форм ячменя в условиях богары
Содержание пролина в зерне ячменя в орошаемом посеве для каждого из образцов принято за 100 %

Данными А.И. Абугалиевой (1994) продемонстрировано, что наибольшее разнообразие глиадиновых и глиадин–глютениновых биотипов отмечено для популяций с необеспеченной богары, в то время как популяция, полученная с полива, отличалась преимущественным преобладанием в сорте Богарная 56 типичного биотипа – от 83,9 до 95,1 %. Сорт Безостая 1, выращенный в условиях необеспеченной богары, также был более богат по многообразию составляющих его глиадиновых биотипов [48]. Подобный вывод был получен при изучении биотипного состава сорта Богарная 56 по электрофоретическим спектрам изопероксидаз листьев, раздел 3.2.2, а также в связи с сопряженностью количественного соотношение компонентов глиадина пшеницы и аналогичной спирторастворимой фракцией ячменя под влиянием условий выращивания [63, 64, 68].

Вариабельность в накоплении пролина у диких сородичей и культурных форм ячменя подтверждена нами в зависимости от климатических условий года и места выращивания, что указывает на значительную модификационную изменчивость физиолого-биохимического метаболизма под влиянием среды и генотип - средовых взаимодействий [45].

Растения снижали негативное влияние элементов засухи (дефицита влаги и высокие температуры) путем накопления эндогенных осмотических веществ, что было показано на стадиях прорастания зерновки, двухнедельных проростков, в фазе трубкования, этапах созревания и в покоящемся зерне ячменя. Отмечено, что его содержание было значительно выше у скороспелых образцов по сравнению с позднеспелыми формами. Активный распад гордеина во время прорастания семян с высоким уровнем свободной аминокислоты отмечался на 5-7 сутки, тогда как у позднеспелых форм интенсивность этого процесса нарастала уже на стадии 3-х суток [149].

Способность генотипов ячменя адаптироваться к экстремальным условиям произрастания связана, наряду с другими приспособительными реакциями, с накоплением в зерне пролина, что коррелирует с представлением о функциональном значении этой аминокислоты, как потенциального источника азота и энергии для обеспечения устойчивого роста последующей генерации зернового материала. Характер наследования уровня накопления пролина в зерне свидетельствуют о возможности оценки гибридных комбинаций по данному показателю для распознавания наиболее ценных генотипов.

4.7. Пролин и другие показатели в характеристике общей адаптационной способности зерновых культур

Пролин и общая адаптационная способность зерновых культур. Вышеприведенные данные позволяют нам выявить следующие закономерности в накоплении свободного пролина в зерне и листьях проростков различных зерновых культур (табл. 9).

Результаты согласуются с литературными данными, свидетельствующими о том, что содержание свободного пролина в некоторых тканях и органах растений может достигать до 2 % от сухого веса, при этом азот пролина нередко составляет более половины всех остальных свободных аминокислот. Такое мощное накопление пролина обычно происходит в структурах и тканях, находящихся перед началом интенсивных процессов роста и диф-

ференцировки (пыльцевые зерна, точки роста, семена и зерна сельскохозяйственных культур), а также в листьях и стеблях некоторых растений на определенных этапах онтогенеза или при наступлении неблагоприятных условий внешней среды [38, 147, 148].

Таблица 9. Накопление свободного пролина у зерновых культур

1.	Содержание пролина в зерне		
1.1.	Зерновые культуры	ячмень, рожь >	тритикале, пшеница
1.2.	Сорта различных культур	сортоспецифичность	сортоспецифичность
1.3.	Сроки вегетации	озимые >	яровые
1.4.	Условия выращивания: климатические условия года; влагообеспечение посева; минеральное питание	специфичность по годам богара на фоне удобрений	специфичность по годам орошение без удобрений
2.	Вариабельность в накоплении пролина в зерне ячменя		
2.1.	Происхождение	дикие формы >	культурные формы
2.2.		гибридные формы уклоняются в сторону лучшего из родителей	
3.	Содержание пролина в органах растений в нормальных (контроль) и стрессовых условиях		
3.1.	Контроль	зерно >	листья проростков
3.2.	Стрессовые условия	Значительное повышение в листьях проростков	

Участие пролина в формированиях адаптивной стратегии зерновых культур обусловлен строением молекулы и физиолого-биохимическим механизмом функционирования данной аминокислоты в растениях, переживающих стрессовые воздействия различных экологических факторов.

Наряду с высокой растворимостью пролин имеет не только гидрофильную, но и гидрофобную части, благодаря которым его молекулы образуют агрегаты. Образовавшиеся полимеры ведут себя как гидрофильные коллоиды. По этой причине пролин действует не как денатурирующий агент, а стабилизирует интактную гидратационную сферу белков, что наиболее ярко проявляется при действии стрессовых факторов, вызывающих понижение водного потенциала клеточного сока [29].

Кроме того, известно, что при образовании пролина, так же и при синтезе амидов, связывается токсичный аммиак, появляющийся в клетках в стрессовых условиях, например при засухе, из-за сбоя нормальных путей метаболизма [162]. Тяжелые металлы, в частности избыток меди, обезвреживается путем образования металл-пролиновых комплексов в корнях до 20 % и листьях – 12 % от общего содержания поступившей в толерантное к меди растение A. maritima [184].

Наряду с этим, К.К. Айтлесов и соавторы (2022) изучали эффект этой аминокислоты на ингибирование нитратредуктазы из корней яровой пшеницы в экспериментах in vitro. Была выявлена способность пролина защищать нитратредуктазу от действия цинка, меди, свинца и кадмия. Авторы считают, функция аккумуляции пролина, вызванного ТМ, скорее всего, ассоциирована с осморегуляцией и защитой ферментов от обезвоживания, чем с прямым хелатированием металла [158].

Пролин может использоваться растениями многими способами, например, при включении в структурные и биологически активные белки, как источник энергии, азота и углерода, возможный физико-химический медиатор и антиоксидантный агент в метаболизме покоящихся и переживающих стрессовые воздействия тканей [54].

Полагают, что механизм антиоксидантного действия пролина связан с инактивацией АФК, образование которых происходит при сбое нормальных метаболических реакций, особенно при стрессе. Такая гипотеза вполне согласуется с химической структурой молекулы аминокислоты. Пролин может образовывать устойчивый радикал, поскольку содержит третичный углеродный атом. Образование такого устойчивого радикала приводит к «тушению» или обрыву каскада свободно-радикальных реакций, запускаемых супероксид -, пероксид - или гидроксилрадикалами. Кроме того, пролин способен к окислению с разрывом пирролього кольца и образованию лактонов [154]. Развивая мысль о возможной сигнальной роли этой аминокислоты, предполагаем, что пролину отводится «стартовая» функция при запуске механизмов биохимических превращений при переходе от одной фазы развития к другой, при различных нагрузках со стороны внешней среды.

Мнения исследователей по вопросу о путях накопления пролина в клетках в стрессовых условиях разноречивы: он может аккумулироваться в результате синтеза *de novo*, либо в процессе замедления его разложения, либо благодаря транспорту из других частей растения [38, 153, 156]. Синтез пролина при завядании связан с наличием сахаров, образованием при их окислении α-кетоглутаровой кислоты и зависит от уровня окислительного фосфорилирования. Обратная корреляция между содержанием хлорофилла и пролина в условиях водного стресса объясняется торможением синтеза зеленого пигмента. В нормальных условиях при декарбоксилировании пролина образуется пирролидин, который в ходе последующих реакций превращается в пиррол, входящий в состав хлорофилла [185].

Существует возможность синтеза пролина с использованием глутамата в качестве предшественника. Ферменты Δ'-пирролин-5-карбоксилат синтетаза и пролиндегидрогеназа играют решающую роль в синтезе и катаболизме пролина соответственно [150]. Метаболизм пролина тесно регулируются абиотическим стрессом и клеточной концентрацией аминокислоты [186]. Авторы статьи пытаются установить ген-кодирующие локусы ключевых ферментов синтеза и разложения пролина для выяснения механизмов тепловой толерантности зерновых культур и устойчивости их к другим стрессовым воздействиям.

Полученные нами данные согласуются с литературными и показывают, что пролин может быть эндогенным регулятором стресс-устойчивости растений, накапливаясь в клетках в значительных количествах при засухе, засолении, действии высоких и низких температур, тяжелых металлов, как показано в разделе 4.1.

Интерпретация вышеприведенных результатов по повышению содержания свободного пролина в условиях различных стрессов коррелирует также с представлениями П.А. Генкеля, Г.В. Удовенко о ведущей роли неспецифических физиолого-биохимических механизмов в формировании сопряженной устойчивости растений [11, 67]. Компенсаторный характер проявления «пролиновой реакции» на действие экстремальных факторов среды доказывается снижением его уровня в растительных клетках и восстановлением осмотического баланса при снятии стрессовой нагрузки [161, 186].

В основе поддержания динамического пула внутриклеточного пролина лежит функционирование многоуровневой координированной регуляции его биосинтеза и распада. В соответствии с существующей в современной науке гипотезой функционирует цитоплазматический белок-регулятор, способный изменять конформационное состояние своей биомолекулы в ответ на внешний сигнал, вызванный, например, осмотическим стрессом. Приобретая при этом сродство к промоторам ключевых ферментов синтеза и деградации пролина – пирролидин -5- карбоксилатдегидрогеназы и пролиноксидазы, гипотетический белок эффективно может регулировать скорости их экспрессии, а также новообразования и деградации пролина [29, 153]. Такая регуляции осуществляется на транскрипционном, посттранскрипционном и посттрансляционном уровнях, что позволяет адекватно реализовать его множественную биологическую роль в процессе развития растений и при стрессе.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что увеличение концентрации свободного пролина в неблагоприятных условиях выращивания является не только проявлением нарушений клеточного гомеостаза, а служит показателем степени устойчивости растений, уровнем реализации их адаптивного потенциала.

Вышесказанное согласуется с представлениями о признании пролина в качестве информативного критерия ОАС зерновых культур (рис. 35) [54].

Обнаружена специфичность в накоплении пролина на уровне: различных колосовых культур, сортов, диких сородичей и культурных форм, озимых, яровых и гибридных комбинаций, органов растения (зерно, листья проростков), а также условий выращивания (климатические по годам, влагообеспечение посевов, минеральное питание) и действия низкотемпературного стресса (рис. 36).

Интересно, что пролин в зерне в связанном состоянии, т.е. находясь в составе белков, может составлять до 10 % к суммарному белку глиадиновой фракции эндосперма. Возможно, что гидрофобные свойства, компактность и прочность молекул глиадинов, обусловлены не только содержанием дисульфидных связей, но и присутствием в значительных количествах пролина. Исследованиями А.И. Абугалиевой (1994) на большом наборе сортов яровой и озимой пшеницы показано, что среди всех аминокислот зерна

пролин наряду с треонином относится к наиболее стабильным к изменениям внешней среды [48].

Рисунок 35. Роль пролина в обеспечении общей адаптационной способности зерновых культур

Рисунок 36. Специфичность в накоплении свободного пролина зерновыми культурами

Это свидетельствует об универсальности данного показателя для изучения жизнедеятельности растений, находящихся в состоянии покоя (например, зерно) и переживающих воздействия экстремальных факторов среды.

Полученные экспериментальные данные позволяют рассматривать пролин, как «стоящий на старте» биологический материал, своеобразное «депо» восстановительных эквивалентов. Он может быть эффективно использован как мощный источника азота и энергии, как возможный физико-химический медиатор в метаболизме покоящихся и переживающих стрессовые воздействия клеток, как защитный осмотический эндогенный агент, хороший криопротектор.

Учитывая, что пролин – потенциальный резервный метаболит, выполняющий полифункциональную биологическую роль в растительном обмене, уровень и вариабельность в его накоплении могут быть достаточно информативными критериями ОАС сельскохозяйственных растений. Считаем, что физиолого-биохимические механизмы клеточного обмена лежат в основе формирования ОАС растений и характеризуются специфичной для каждого вида взаимосвязью адаптивных реакций в онтогенезе и филогенезе, что совпадает с мнением А.А. Жученко о функциональной иерархии соответствующих детерминант метаболической активности, проявлением компенсаторных, синергетических и ретроспективных по своей природе эффектов [187].

Продуктивность, содержание белка и его фракций в характеристике общей адаптационной способности ячменя. Наряду с пролином в характеристике ОАС зерновых культур оценивали структуру урожая и продуктивность ячменя. Установлено, что такие показатели продуктивности, как «высота растения», «продуктивная кустистость», «масса зерна с растения» являются достаточно четкими индикаторами изменчивости внешней среды для культурного *H. vulgare* L. и дикого *H. spontaneum* K. ячменя [82, 188].

Так, по «высоте растения» дикие сородичи на 15-20 % превосходили таковой показатель сортов Байшешек, Береке 54 и Южно-Казахстанский 43, особенно выделялись образцы туркменской популяции. В засушливый год, когда все растения испытывали

угнетение роста и развития, дикие сородичи на 7-9 % превосходили по высоте культурные формы. Отдельные популяции дикого ячменя характеризовались минимальным количеством продуктивных стеблей, а культурные формы сформировали их в 2-3 раза меньше. По «продуктивной кустистости» образцы дикого ячменя из Туркменистана также превосходили представителей израильской популяции и изучаемые сорта. Показатели «высота растений» и «продуктивная кустистость» являются достаточно четкими индикаторными свойствами на изменчивость внешней среды, что совпадает с результатами работ [189]. «Масса зерна с растения» является интегральным биологическим критерием адаптивности, показателем хозяйственно ценного урожая для культурных форм и критерием выживаемости для диких форм. Поэтому объяснимы максимальные значения массы зерна с растения для сортов, к которым приближаются и отдельные популяции *H. spontaneum* K. из Израиля. Сравнительный анализ 5 гибридных популяций показал перспективность комбинации *H. spontaneum* 709 x Южно-Казахстанский 43, в том числе и в ряду поколений, а также Байшешек x *H.spontaneum* 705. Выделившаяся в F_2 популяция Байшешек x *H.sponatenum* 705 (F_3) отличалась выравненностью и характеризовалась относительно высоким продуктивным потенциалом, т.к. шестирядный колос более длинный, чем у сорта Байшешек, обеспечивал массу зерна с растения при той же продуктивной кустистости [190].

Установлен высокий диапазон изменчивости по содержанию белка в зерне диких форм ячменя из Израиля (15,1-19,6 %) и Туркменистана (14,2-16,8 %). У культурного ячменя содержание белка в зерне было ниже и колебалось, в основном, между 12 и 14 %. Наблюдались различия по вариабельности данного показателя у озимых и яровых форм: озимый – 7,1-13,1 %; яровой – 8,8-17,7 %. Сорта как ярового, так и озимого ячменя отличались по стабильности формирования белка по годам и в разных условиях произрастания – полив или богара [191].

Уровень белка в зерне культурного ячменя формировался в большей степени за счет водо - и солерастворимой фракции (26-42 % к суммарному у озимого и 22-37 % у ярового), дикие формы отличались превалированием гордеина (26-37 % к сум-

марному для туркменских и 27-35 % к суммарному для израильских популяций). Соотношение фракций было дифференцировано не только для отдельных сортов, но и условий их произрастания. Выявлены линии, в основном, из израильской популяции, характеризующиеся высоким содержанием белка и значительной долей спирторастворимой фракции [87, 190].

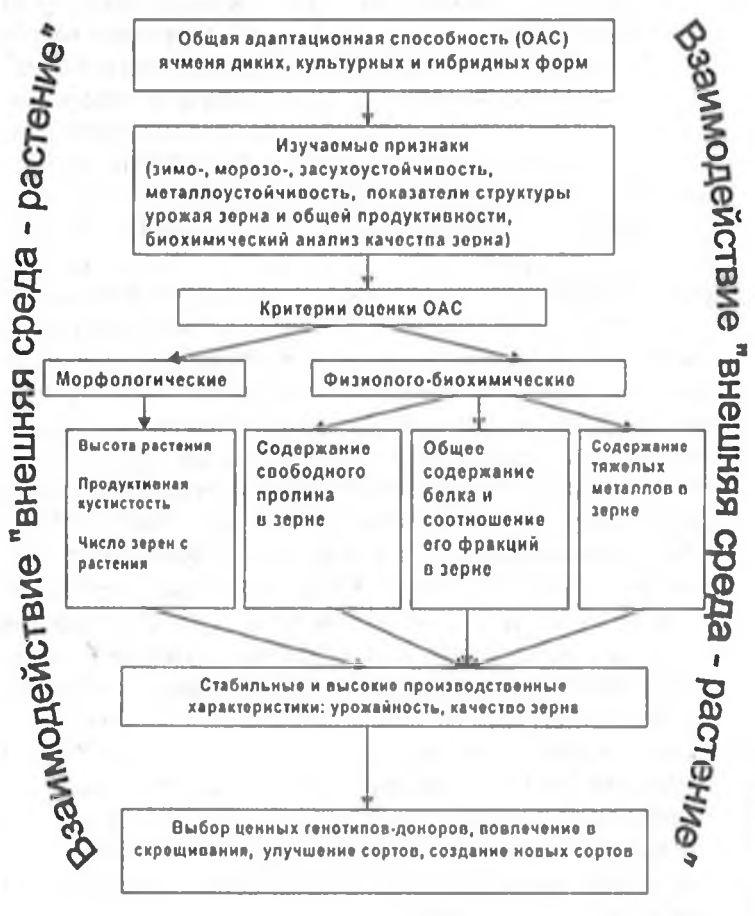


Рисунок 37 – Поиск критериев ОАС ячменя

Показана целесообразность комплексного подхода к определению ОАС зерновых культур. Установлена эффективность использования вышеперечисленных интегральных критериев: свободного пролина, показателей продуктивности, белка и его фракций в зерне диких и культурных форм ячменя в распознавании устойчивых к изменениям внешней среды высококачественных генотипов ячменя (рис. 37) [87].

Полученные результаты представляют интерес, как с точки зрения, понимания общебиологических закономерностей реализации адаптивного потенциала зерновых культур, так и повышения эффективности селекционного отбора по распознаванию генотипов устойчивых к неблагоприятным воздействиям среды, выявлению доноров с высоким уровнем ОАС.

5. УСТОЙЧИВОСТИ К АБИОТИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ СРЕДЫ ГЕНОТИПОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ДИКИХ, КУЛЬТУРНЫХ И ИНТРОГРЕССИВНЫХ ФОРМ

5.1. Интрогрессивные формы озимой пшеницы

Дикие сородичи пшеницы являются, как правило, «рекордсменами» устойчивости, т.к. селекцию их произвела сама природа путем естественного отбора. В КазНИИЗиР в течение последних 25 лет проводилась серия межвидовых скрещиваний с участием диких видов пшеницы *T. kiharae, T. timophevii, T. militinae* и других, как источников иммунности, устойчивости и высокого содержания белка в зерне [83].

Известно, что интрогрессия означает включение отдельных генов одного вида организма в генофонд другого вида. Достигается это одним из традиционных методов – межвидовой гибридизацией, дающей возможность получения высокопластичного нового в генетическом отношении исходного материала для селекции пшеницы [192].

Для исследований взяты полученный К.К. Кожахметовым 12 интрогрессивных форм озимой пшеницы, образованных от скрещивания сортов озимой мягкой пшеницы казахстанской селекции – Карлыгаш, Эритроспермум 350, Жетысу, Стекловидная 24, Комсомольская 1 и широко районированного в республике сорта Безостая 1 с дикими видами пшеницы – *Triticum timopheevii, Triticum militinae, Triticum kiharae, Aegilops cylindrical, Aegilops triaristata.* Их сравнивали с сортами и дикими сородичами по засухо-, зимо-, морозоустойчивости и устойчивости к ТМ.

Адаптивность к вышеприведенным экологическим стрессовым факторам, рассматривали по комплексу показателей: для оценки засухоустойчивости – накопление биомассы, сила корневого роста, изменение в содержании хлорофилла и накопление свободного пролина в проростках, анализ структуры урожая и продуктивности; для характеристики зимо- и морозостойкости – процент выживших растений после перезимовки, промораживание в морозильных камерах, накопление свободного пролина; для оценки металлоустойчивости – биометрические характеристики роста и развития пшеницы.

Родословная межвидовых гибридных форм представлена на рисунке 38.

Рисунок 38. Родословная интрогрессивных форм пшеницы

В качестве сортов-стандартов использовали Алмалы (местная селекция) и Карахан (зарубежная селекция). Изучаемые интрогрессивные формы идентифицированы цитологическими, селекционными методами, отобраны по гомозиготностии [83]. Для проведения полевых и лабораторных исследований использовали зерно, выращенное в одинаковых условиях на опытных полях КазНИИЗиР. Исследования проводили в 2014-2017 гг., используя лабораторную базу КазНИИЗиР, а также КазНУ имени аль-Фараби.

5.2. Скрининг диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы по засухоустойчивости

Общая схема опытов по скринингу ресурсного материала озимой пшеницы на засухоустойчивость на основе морфофизиологических, физиолого-биохимических и селекционно-генетических показателей приведена на рисунке 39.

Методика оценки засухоустойчивости диких, культурных форм пшеницы и их интрогрессивных линии по комплексу показателей подробно описана в работе [193].

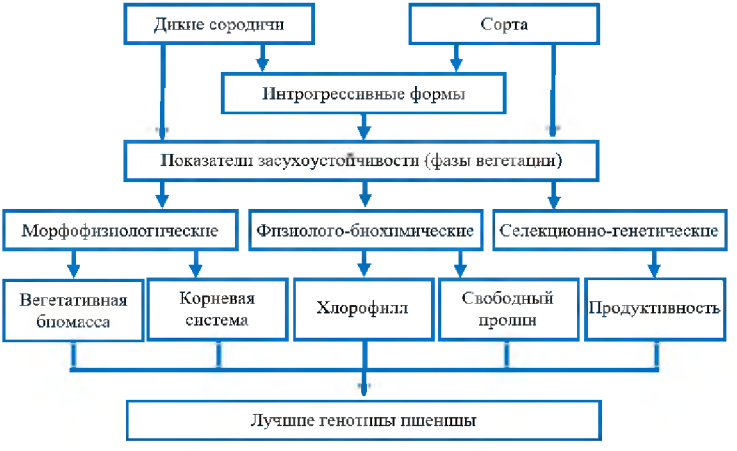


Рисунок 39. Общая схема опытов по скринингу ресурсного материала озимой пшеницы на засухоустойчивость

Определение накопления биомассы и обнаружение абиотического стресса методом NDVI. Фенотипирование осуществляли на инструментальной основе, используя NDVI-технологию измерения светоотражения вегетативной массой в красной и ближней инфракрасной области спектра для определения накопления биомассы, листового и зеленого индекса, идентификации абиотического стресса на приборе Greenseeker, N. TechInductries, США [194].

Среди культурных сортов по индексу зеленой массы в фазу кущения и трубкования лидировали в 2015 году Комсомольская 1 (0,46 и 0,70) и Карлыгаш (0,41 и 0,63), в 2016 году максимального результата по измеряемому показателю достиг сорт Эритроспермум 350 (0,62 и 0, 79), а в 2017 году – Эритроспермум 350 (0,59 и 0, 75) и Жетысу (0,42 и 0,66). Скрининг методом NDVI диких форм и сортов пшеницы (родительских форм для создания интрогрессивного материала) установлен ряд убывания по накоплению продуктивной биомассы в фазу цветения [193]:

T. kiharae (0,80) > *T. timopheevii* (0,72) >
> *T. militinae* (0,68) > *T. aestivum* (0,55-0,62)

Генотипы интрогрессивных форм озимой пшеницы с максимальным индексом NDVI представлены в таблице 10.

Таблица 10. Генотипы интрогрессивных форм озимой пшеницы с максимальным индексом NDVI

Фаза развития	Значение индекса NDVI			Генотипы с максимальным индексом NDVI
	мин	макс	сред	
начало кущения	0,28	0,45	0,37	Эритроспермум 350 х *T. militinae* Жетысу х *T. militinae* Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica*
полное кущение	0,32	0,54	0,43	Эритроспермум 350 х *T. militinae* Жетысу х *T. militinae* Безостая1 х *Ae. cylindrica*
начало трубкования	0,40	0,62	0,54	Жетысу х *T. timopheevii* Безостая 1 х *Ae. cylindrica* Эритроспермум 350 х *T. militinae*
трубкование	0,54	0,77	0,65	Безостая1 х *Ae. cylindrica* Эритроспермум 350 х *T. militinae* Эритроспермум 350 х *T. kiharae* (Безостая1х *T.militinae*) х Т. *militinae*-9 (4)
колошение	0,59	0,86	0,72	Эритроспермум 350 х *T. militinae* Безостая1 х *Ae. cylindrica* (Безостая1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-4 Эритроспермум 350 х *T. kiharae*
цветение	0,66	0,88	0,77	Эритроспермум 350 х *T. kiharae* Безостая1 х *Ae. cylindrica* Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica*
налив зерна	0,64	0,78	0,71	Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica* Эритроспермум 350 х *T. kiharae* Безостая1 х *Ae. cylindrica*
молочная спелость	0,58	0,70	0,64	Жетысу х *T. militinae* Эритроспермум 350 х *T. kiharae* Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica* (Безостая 1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-9

В фазы кущения и трубкования интрогрессивные формы по индексам NDVI находились в диапазоне 0,28-0,77 с последующим возрастанием в фазы колошения и цветения до 0,86-0,88, дальнейшем снижением по мере деградации хлорофильного комплекса и созреванием зерна. Выделились генотипы, имеющие в качестве родительских форм *Ae. cylindrica, T. militinae*, Эритроспермум 350, Безостую 1. Интрогрессивные формы озимой пшеницы имели более мощную вегетативную массу, что соответствовало более высоким значениям индексов NDVI, превышающим сорт-стандарт Алмалы [193].

Кущение посевов выявило следующие генотипы с максимальным индексом вегетативного развития: Эритроспермум 350 х *T. militinae* (0,59), Жетысу х *T. militinae* (0,51). По мере трубкования к лидерам по индексу зеленого развития добавляется Безостая 1 х *Ae. cylindrica* (0,60-0,87). Начиная с фазы колошения до налива и созревания зерна, в группу генотипов с максимальным индексом NDVI вошли интрогрессивные формы Эритроспермум 350 х *T. kiharae*, Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica*, (Безостая 1 х *T. militinae*) х *T. militinae* - 4 (9). В фазы колошения - цветения отмечены максимальные значения индекса NDVI у всех изучаемых форм пшеницы [195].

Выделившиеся интрогрессивные формы имеют высокий потенциал продуктивного развития и представляют ценный материал для селекционного процесса, что подтверждается работами других ученых по влиянию гермоплазмы диких сородичей на улучшения качеств сельскохозяйственных растений [84, 196].

Содержание хлорофилла в листьях растений в полевых и лабораторных условиях. Изучение взаимосвязи между показателями фотосинтетического аппарата сельскохозяйственных культур и урожайностью имеет важное значение как для понимания закономерностей продукционного процесса, так и для разработки критериев селекции на высокую продуктивность и моделей прогнозирования урожайности в агроценозах [197, 198].

Содержание хлорофилла в полевых условиях замеряли на портативном приборе СПАД 502, FP 100 (PSI, Чехия). В фазу кущения отмечено максимальное содержание хлорофилла за период вегетации, которое варьировало от 0,63 до 0,71. Фаза трубкования протекала, как правило, в условиях температурного стресса (37-39 °С) и содержание хлорофилла снижалось до уровня 0,34-0,62 у изучаемых форм. К фазе колошения содержание хлорофилла стабилизировалось на уровне 0,59-0,68 (таблица 11).

Дикие сородичи характеризовались более узким интервалом изменчивости по содержанию хлорофилла на уровне 0,53-0,59 в сравнении с сортами 0,60-0,68 (сорт – стандарт Алмалы).

Таблица 11. Содержание хлорофилла в единицах FP 100 у интрогрессивных форм озимой пшеницы.

Фаза развития	Содержание хлорофила			Генотипы
	мин	макс	сред	
начало трубкования	0,63	0,71	0,68	Эритроспермум 350 х *T. militinae* Безостая 1 х *Ae. cylindrical* (Безостая 1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-4 Жетысу х *T.timopheevii* Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica*
трубкование – колошение	0,54	0,62	0,47	Эритроспермум 350 х *T. kiharae* Жетысу х *T. militinae*
колошение-цветение	0,59	0,68	0,64	Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica* Эритроспермум 350 х *T.kiharae*
налив зерна	0,53	0,68	0,61	Безостая 1 х *Ae. cylindrical* Жетысу х *T. militinae*

Данные по генотипам озимой пшеницы в сравнении с сортом-стандартом Алмалы, содержание хлорофилла в листьях которого принято за 100 %, представлены на рисунке 40. Содержание хлорофилла у диких сородичей и интрогрессивных форм превышало стандарт Алмалы в 1,1-1,3 раза, лидировали *Ae. cylindrica* и Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica*, у культурных сортов – в пределах стандарта, с превышением в 1,1 у Эритроспермум 350.

В лабораторных опытах на проростках содержание хлорофилла было подвержено определенному диапазону изменчивости и превышало сорт-стандарт Алмалы для диких форм в пределах 1,3-1,5 раз.

Среди сортов и интрогрессивных форм были образцы, которые характеризовались почти 2-х кратным увеличением содержания хлорофилла, например, Эритроспермум 350 х *T. kiharae*, Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica*, Эритроспермум 350 и Безостая 1 (рис. 41).

Выявлена свойственная интрогрессивным формам вариабельность в накоплении хлорофилла [199]. Достаточно четко просматривалась тенденции на превышение его содержания по сравнению с культурными сортами, что свидетельствует в пользу повышенного продуктивного потенциала интрогрессивного генетического материала синтетиков и находит подтверждение в исследованиях [85, 200, 201].

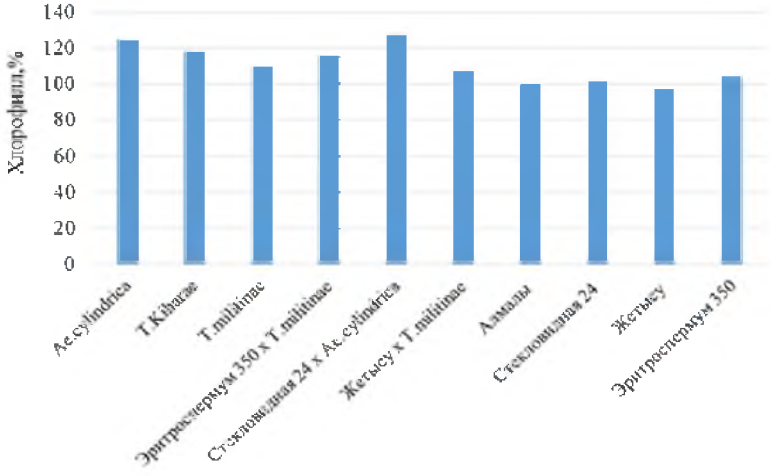


Рисунок 40. Содержание хлорофилла в листьях генотипов пшеницы, % к сорту-стандарту Алмалы (полевые опыты)

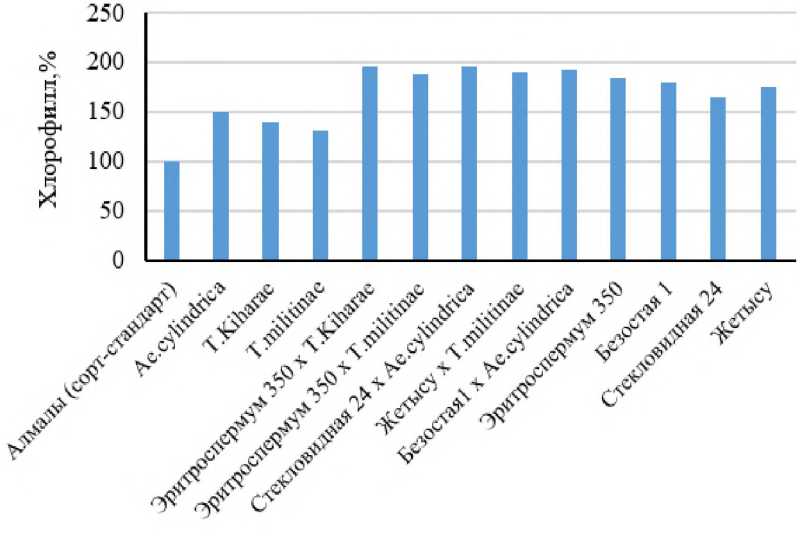


Рисунок 41. Содержание хлорофилла в листьях генотипов пшеницы, % к сорту-стандарту Алмалы (лабораторные опыты)

Продуктивность и урожайность диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы. В таблице 12 сведены данные по продуктивности интрогрессивных форм озимой пшеницы в сравнении с культурными сортами, выросшими в условиях богары Алматинской области.

Следует отметить, что по основному для характеристики засухоустойчивости показателю, все генотипы с интрогрессией гермоплазмы диких сородичей показали хорошие результаты.

По «массе 1000 зерен» 6 интрогрессивных форм превысили сорт-стандарт Алмалы (47,7 г), из них 4 интрогрессивные формы оказались выше другого сорта Карахан (50,7 г): Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica* и Жетысу х *T. militinae*, Эритроспермум 350 х *T. kiharae*. Данный показатель продуктивности, как правило, сопряжен с другим – «масса зерна в главном колосе», что находит подтверждение в наших экспериментах. Оказалось, что эти генотипы входят в число форм, проявляющих более высокие пластические показатели в процессе вегетации. Они имели максимальные значения по накоплению зеленой массы и хлорофилла. По характеристике «высота растения» интрогрессивные формы варьировали в диапазоне (106,9-131,3 см), устойчиво лидировал на протяжении трех лет репродукции (Безостая 1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-9, наименьшее значение у (Безостая 1 х *Ae. triaristata*) х Карлыгаш.

Показатель «продуктивная кустистость» варьировал в пределах 3,6-5,1 шт., выделился генотип (Безостая 1 х T. militinae) х T. militinae-4 (табл. 12).

Считаем, что оценка засухоустойчивости по результирующему показателю для характеристики засухоустойчивости «масса 1000 зерен» и другим косвенным, рассмотренным выше, перспективна для определения агрономической устойчивости к засухе интрогрессивных форм озимой пшеницы, что подтверждается работами [196, 202].

Результирующим показателем адаптивности посевов озимой пшеницы и других зерновых культур к окружающей среде и приоритетом в хозяйственном использовании является общая урожайность. Повышение засухоустойчивости без оценки урожайности зерновых бесперспективно в селекции [203, 204].

Таблица 12. Показатели продуктивности интрогрессивных форм озимой пшеницы, урожай 2015-2017 годов (средние значения) *

Наименование образцов	Высота растений, см	Кустистость шт.	Длина главного колоса, см	Количество колосков, шт.	Число зерен в главном колосе, шт.	Масса зерен в главном колосе, г	Масса 1000 зерен, г
Алмалы - стандарт	103,9	3,6	11,0	20,7	60,8	6,2	48,0
(Безостая1 х *Ae.triaristata*) х Карлыгаш	105,2	3.9	11,8	21,8	77,8	6,1	43,3
Эритроспермум 350 х *T. militinae*	113,8	3,9	10,5	20,0	63,5	6,7	48,2
Безостая1 х *Ae. cylindrica*	125, 2	4,2	13,2	21,8	76,0	6,9	52,5
(Безостая1 х *T.militinae*) х *T. militinae*-6	125,2	4,3	11,2	21,2	62,8	6,4	48,8
(Безостая1 х *T.militinae*) х *T. militinae*-9	128,8	4,3	12,8	21,6	80,2	6,6	47,0
(Безостая1 х *T.militinae*) х *T. militinae*-4	120,0	4,9	13,0	21,2	64,0	6,8	47,9
Карахан	123,9	4,0	11,4	21,9	65,7	6,0	50,3
Стекловидная 24 х *T. timopheevii*	120,7	4,3	11,1	19,3	59,0	7,0	48,5
Жетысу х *T. timopheevii*	112,2	4,4	11,2	18,9	66,8	6,9	47,8
Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica*	123,5	4,4	12,0	22,7	73,1	7,8	56,0
Эритроспрмум350 х *T.kiharae*	112,3	4,8	11,6	22,4	69,6	7,7	56,2
Жетысу х *T. militinae*	115,0	4,6	11,0	22,0	68,9	7,6	54,9

* – среднее квадратическое отклонение в пределах ошибки

Данные по урожайности интрогрессивных форм озимой пшеницы представлены в таблице 13.

Таблица 13. Урожайность интрогрессивных форм озимых форм пшеницы, 2015–2017 гг. (средние значения)

Интрогрессивные формы	Урожай, ц/га
Алмалы (стандарт)	41,3 ±0,9
(Безостая1 х *Ae.triaristata*) х Карлыгаш	53,3± 0,8
Эритроспермум 350 х *T. militinae*	57,5±0,9
Безостая1 х *Ae. cylindrica*	59,5±0,9
(Безостая1 х *T.militinae*) х *T. militinae*-6	51,1±0,5
(Безостая1 х *T.militinae*) х Т. *militinae*-9	53,3±0,4
(Безостая1 х *T.militinae*) х Т. *militinae*-4	51,1±0,7
Стекловидная 24 х *T. timopheevii*	57,7±0,8
Жетысу х *T. timopheevii*	51,1±0,7
Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica*	65,2±0,8
Эритроспермум350 х Т. *kiharae*	66,6±0,9
Жетысу х *T. militinae*	64,6±0,9

По общей урожайности изучаемые формы превосходили сорт-стандарт Алмалы в среднем на 10-15 ц/га, что свидетельствует в пользу генетического разнообразия интрогрессивного материала и высокого потенциала урожайности. Наибольшей урожайностью характеризовались: Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica*, Жетысу х *T. militinae* и Эритроспермум 350 х *T. kiharae*. Полученные результаты находят подтверждение в исследованиях других авторов, экспериментально доказывающих целесообразность внедрения чужеродного генетического материала для повышения продуктивности и общей урожайности зерновых культур в условиях засухи и других стрессов, а также улучшения хозяйственно – ценных качеств пшеницы [85, 192, 205].

В целом, по рассматриваемым показателям структуры урожая не наблюдалось существенных различий за три года репродукции, выявленные особенности по годам не превосходят или незначительно превосходят среднестатистические, что свидетельствует об устойчивости и относительной буферности интрогрессивного генетического материала к изменяющимся по годам условиям произрастания, их сродством к диким сородичам.

Анализ состояния корневой системы диких, культурных и интрогрессивных форм. Лабораторным методом оценки засухоустойчивости на приборе WinRHIZO-ROOT в CYMMIT (Турция) выявлена вариабельность изучаемых пшениц по интенсивности развития корневой системы на ранних и более поздних стадиях развития проростков, что может быть косвенным признаком для характеристики засухоустойчивости [193].

Характеристику корневой системы исследуемых генотипов производили по 12 показателям в вариантах опытов со срезанием надземной части и с сохранением вегетативной массы растений на основе опытных данных А.С. Масимгазиевой.

Установлены диапазоны изменчивости по мощности корневого роста диких, культурных и интрогрессивных форм, выявлены перспективные образцы: (Безостая 1 х *Ae. triaristata*) х Карлыгаш; Жетысу х *T. timopheevii*; Карлыгаш; Комсомольская 1; Т. *timopheevii* (стадия 8-10 дневных проростков); Эритроспемум 350 х *T. kiharae*; Жетысу х *T. militinae*; Эритроспермум 350; *T. kiharae*; Ae. triaristata (21 дневные корни, в отсутствии вегетативной массы); Эритроспемум 350 х *T. militinae*; (Безостая 1 х *T. militinae*) х *T. militinae*; Стекловидная 24; Безостая 1; *T. timopheevii*; *T. militinae* (корни 21 дневных проростков).

По всем показателям выделяются 2 генотипа с повышенной нормой реакции на стресс: Эритроспермум 350 х *T. kiharae*; Жетысу х *T. militinae*, выделенные по 3 из 9 показателей. Они значительно превосходили своих родителей и сорт - стандарт Карахан по массе корней, ветвлению и объему корневой системы.

По развитию корневой системы на более поздних стадиях выделяются генотипы (Безостая 1 х *Ae. triaristata*) х Карлыгаш по 9 из 12 признаков, также как и на стадии 8-10 дневных проростков (по 7 из 10) и генотип (Безостая 1 х *T.militinae*) х *T. militinae* (по 10 из 12 признаков).

В таблице 14 приведен пример по изменчивости показателей в развитии корневой системы интрогрессивных форм пшеницы на одной из стадий вегетации.

В серии опытов по срезанию надземной части растений отчетливо выделились генотипы (Безостая 1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-4; Безостая 1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-9 с наиболее развитой вторичной корневой системой.

Таблица 14. Характеристика корневой системы интрогрессивных форм пшеницы (фаза кущения – трубкования), см

Показатель корневой системы	min	max	среднее	Сорт-стандарт Карахан
Длина, см	897,1	1731,4	1348,1	1196,8
Площадь, см^2	146,0	410,6	250,4	184,2
РА, см^2	46,5	130,7	79,7	58,6
Объем, см^3	1,8	8,8	4,0	2,3
Средний диаметр	0,47	0,80	0,58	0,49
Кончики корней	1337,0	3240,5	2265,5	2248
Длина вторичных корешков	7046,5	22702,5	13558,3	9073
Число разветвлений	1333,0	4018,0	2218,4	1639
Масса свежих листьев, г	5,1	14,0	9,1	10,3
Масса сухих листьев, г	0,68	2,45	1,40	1,50
Масса корней, г	2,65	8,56	4,66	3,13
Масса сухих корней, г	0,23	0,81	0,44	0,30

Срезание надземной части рассматривается как стресс, который индуцирует развитие вторичных корешков и косвенно связан с засухоустойчивостью, являясь дополнительной характеристикой интенсивности прорастания. Следует заметить, что длина вторичных корешков и разветвления характеризуют интенсивность развития корневого роста, свидетельствуют по потенциале устойчивости к засухе, что находит подтверждение в работах [206, 207].

Определение свободного пролина в полевых и лабораторных условиях. Наблюдалась вариабельность в накоплении пролина в листьях изучаемых пшениц в критические по засухе периоды (июнь-июль) для развития растений, совпадающие с фазами цветения и налива зерна, в репродукциях трех лет (табл. 15).

Установлено, что содержание пролина в фазу цветения у культурных сортов пшеницы колебалось от 29 до 38 мг%, причем наибольшее количество пролина фиксировалось у сортов Стекловидная 24, Жетысу, которые являются родительскими формами для исследуемых интрогрессивных форм. Содержание свободного пролина диких сородичей значительно превышало культурные сорта и находилось в пределах 43-58 мг%, что превосходило культурные в 1,8-2 раза. Среди диких форм выделялись по уровню свободного пролина *T. kiharae* и *T. militinae*. Количество аминокислоты в листьях интрогрессивных форм колебалось в

пределах 35-55 мг%, наибольшее было отмечено у форм: Стекловидная 24 х *T. timopheevii* (50 мг%), Эритроспермум 350 х *T. kiharae* (52 мг%) и Жетысу х *T. militinae* (55 мг%). По мере возрастания температуры, происходящей на начальных этапах фазы налива зерна, наблюдалась отчетливая тенденция на увеличение количества свободного пролина в листьях изучаемых пшениц. Содержание пролина возросло в среднем на 33 % у всех форм (табл. 15). Дифференцировка данных по содержанию пролина изучаемых пшениц по годам выращивания представлена в статье [193].

Таблица 15. Изменчивость в накоплении свободного пролина в листьях диких, культурных и интрогрессивных форм в различные фенологические фазы развития пшеницы, данные 2015-2017 гг. (средние значения)

Генотипы пшеницы	Диапазон изменчивости по накоплению свободного пролина, мг%	Образец показавший лучший результат
Фаза цветения		
Дикие сородичи	43-58	*T. kiharae, T. militinae*
Интрогрессивные формы	35-55	Стекловидная 24 х *T. timopheevii*, Эритроспермум 350 х *T. kiharae*, Жетысу х *T. militinae*
Сорта	29-38	Стекловидная 24, Жетысу
Фаза налива зерна		
Дикие сородичи	51-68	*Ae.cylindrica, T.kiharae*
Интрогрессивные формы	76-85	Эритроспермум 350 х *T. kiharae*, (Безостая 1х *T. militinae*) х *T. militinae*
Сорта	46-60	Эритроспермум 350, Стекловидная 24

Опыты в условиях искусственной засухи, созданной выращиванием проростков пшеницы на среде с содержанием градиента сахарозы 0,5М, 0,7М, показали слабую ростовую реакцию всех изучаемых образцов. Содержание пролина в листьях проростков культурных родительских форм увеличивалось по мере роста ионной силы сахарозы и составило на 0,5М сахарозе у Стекловидной 24-19 мг%, Эритроспермум 350 – 23 мг%, на 0,7М сахарозе – увеличилось еще 1,2-1,3 раза соответственно. Следует отметить, что эти сорта пшеницы в полевых опытах показали высокую норму реакции по пролину на засуху. Дикие сородичи

T. kiharae и *T. militinae* показали увеличение в содержании пролина при выращивании на 0,7М сахарозе в 1,72 раза. Интрогрессивные формы тяготели к диким сородичам и показали в среднем аналогичное (1,68 раз) повышение уровня аминокислоты при осмотическом стрессе (рис. 42).

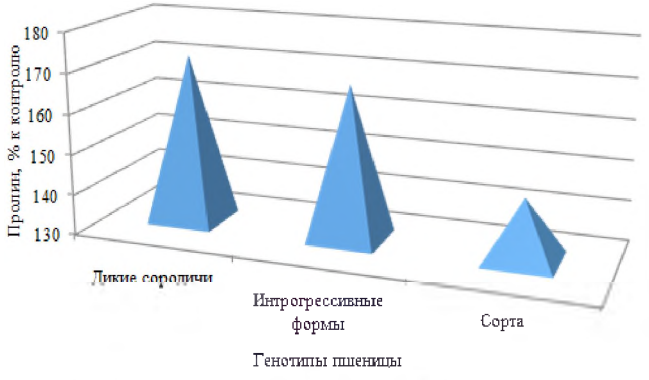


Рисунок 42. Накопление свободного пролина в проростках диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы при выращивании на 0,7 М сахарозе

Клеточный метаболизм составляет основу развития адаптивных механизмов, способствующих формированию ОАС сельскохозяйственных культур. В этой связи сравнительный анализ содержания свободного пролина в различных сортах и диких сородичах пшеницы, их интрогрессивных формах в условиях засухи является весьма перспективным для оценки уровня проявления адаптационных возможностей растений при создании гибридных комбинаций, отборе ценных генотипов по комплексу хозяйственно-полезных признаков и свойств [54].

5.3. Скрининг диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы по зимо- и морозостойкости

Зимостойкость диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы. Для озимых посевов зерновых культур лимитирующим фактором выживания и развития на ранних этапах онтогенеза является устойчивость к перезимовке, что может быть

обусловлено в значительной мере протеомными трансформациями в изменяющихся условиях окружающей среды, развитием адаптационных изменений белкового аппарата и направленности метаболических процессов растений при смене температур и сопутствующих условий окружающей среды [18, 19, 208].

По зимостойкости получены уникальные результаты, все 12 исследуемых интрогрессивных форм пшеницы показали 100 % выживаемость в полевых условиях Алматинской области за исследуемые годы. Культурные сорта озимой пшеницы перезимовали на 83 % в 2017 году, что несколько выше показателя прошлых лет (75 % перезимовавших в 2015 году и 80% – в 2016 году), наилучший результат показали Эритроспермум 350 и Безостая 1 (2015 год), Безостая 1, Жетысу (2016 и 2017 годы). Дикие сородичи перезимовали на 96-98 % по данным трех лет репродукции (рис. 43).

Рисунок 43. Выживаемость диких и культурных форм пшеницы в сравнении с интрогрессивными (100 %) при перезимовке, 2015-2017 гг. (средние значения)

Установлено, что интрогрессивные формы по уровню зимостойкости не уступают своим диким сородичам, а в некоторых случаях превосходят их, что находит подтверждение в наших предыдущих исследованиях [79]. Показано, что гермоплазма диких видов влияет на выживаемость гибридных комбинаций ячменя и других сельскохозяйственных культур, выступая в качестве адаптогена к низкотемпературному и другим стрессам окружающей

среды. Полученные данные свидетельствуют о высокой адаптационной способности к комплексу зимних невзгод изучаемого материала озимой пшеницы.

Определение содержания свободного пролина в связи с морозостойкостью диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы. Чтобы подтвердить результаты по полевой устойчивости изучаемого материала пшеницы к низким температурам организована серия лабораторных экспериментов. Вместе с тем, известно, что полевые данные не всегда коррелируют с лабораторными, но вектор изменений, общая тенденция, как правило, идентична.

Лабораторные опыты по промораживанию изучаемых образцов пшеницы в морозильных камерах при температуре -16…-18 °С проводили по методике И.И. Туманова [209]. Выявили различия в степени реагирования на низкотемпературный стресс среди диких, культурных и интрогрессивных форм по числу выживших проростков (табл. 16).

Таблица 16. Влияние низкотемпературного стресса на выживание проростков диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы, 2015-2017 гг. (средние значения)

Генотипы пшеницы	Количество выживших проростков, % от общего числа	Образцы, проявившие лучший результат
Дикие сородичи	60-78	*T. kiharae, Ae. cylindrica, T. militinae*
Интрогрессивные формы	35-66	Эритроспермум 350 х *T. kiharae*, Безостая 1 х *Ae. cylindrica*, Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica*
Сорта	22-38	Прогресс, Эритроспермум 350, Безостая 1

Наибольшее число выживших проростков после промораживания-оттаивания наблюдалось среди диких сородичей, интрогрессивные формы показали большой размах изменчивости, а сорта только на 30 % оказались жизнеспособными.

В лабораторных условиях морозостойкость изучаемых форм пшеницы оценивали по накоплению пролина согласно [141]. На рисунке 44 представлены данные по коэффициенту накопления свободного пролина при охлаждении диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы трех лет репродукции.

Показано, что под воздействием охлаждения происходит накопление свободного пролина в проростках всех изучаемых генотипов пшеницы. Дикие сородичи реагируют на низкотемпературный стресс в большей степени, коэффициент накопления пролина находится в диапазоне 1,92-2,40, интрогрессивные формы незначительно отстают от диких с коэффициентом накопления по пролину в пределах 1,75-2,22, сорта характеризуются самым низким уровнем повышения пролина в диапазоне 1,45-1,68 (рис. 44).

Среди каждой из групп выделяются образцы, превышающие остальные по степени реагирования на низкотемпературный стресс, например, T. *kiharae* (*Ae. cylindrica* в 2015г.), (Безостая 1 x *T. militinae*) x *T. militinae*-9 и Эритроспермум 350 x *T. kiharae*.

Обнаружена специфичность в накоплении пролина на уровне: диких сородичей и культурных форм, гибридных комбинаций к действию низкотемпературного стресса. Полученные результаты свидетельствуют в пользу применения свободного пролина в качестве информативного критерия для дифференцировки селекционного материала по морозоустойчивости, что подтверждается ранее сделанными выводами на сортах в разделе 4.2 и работами [141, 168, 169].

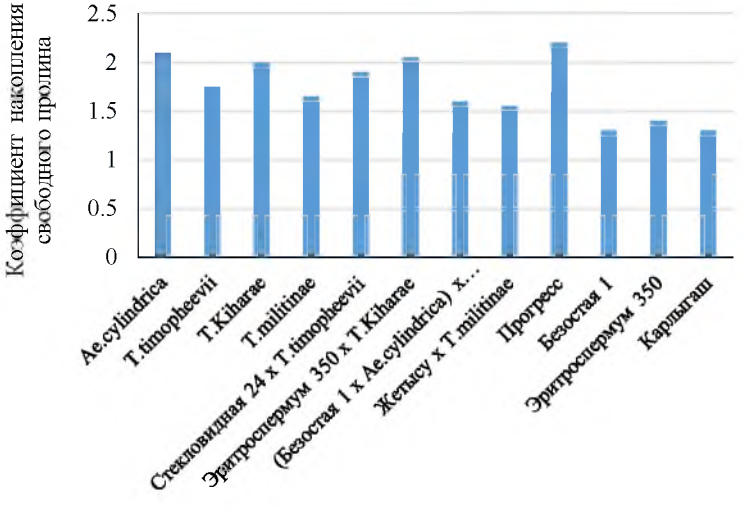


Рисунок 44. Накопление свободного пролина в проростках диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы под влиянием охлаждения (опыт/контроль)

В целом результаты полевых и лабораторных испытаний подтверждают тенденцию на проявления высокого уровня зимо- и морозоустойчивости у диких сородичей, наследования этих свойств интрогрессивными формами пшеницы, созданными на их основе.

5.4 Устойчивости к тяжелым металлам диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы

Влияние тяжелых металлов на прорастание корней и побегов пшеницы. Тяжелые металлы относятся к числу абиотических факторов внешней среды антропогенного происхождения. В настоящее время присутствие ТМ в окружающей среде рассматривается как один из сильнейших экологических стрессоров, действующих на растения. Это – техногенные загрязнители, вызванные нерациональной деятельностью человека. Источниками ТМ могут быть выбросы горнодобывающей, металлургической промышленностей и большинства химических производств, автомобильного транспорта и пестициды [180,210,211]. Однако, не следует забывать, что многие металлы – биофилы, в оптимальных количества необходимы растениям для обеспечения их жизнедеятельности, входят в состав ферментов, биополимеров, принимают участие в поддержании структуры и коллоидных свойств протоплазмы и т.д. [212]. В концентрациях, превышающих предельно-допустимые (ПДК), они становятся «тяжелыми», опасными для живых организмов. Для ТМ характерны высокая токсичность, мутагенный и канцерогенный эффекты [213,214]. Они оседают в почве и активно воздействуют на сельскохозяйственные посевы.

Известно, что наиболее распространенными загрязнителями на территории Казахстана, являются медь и кадмий, наряду со свинцом и цинком [74]. Примерно 90% ТМ, поступающих в окружающую среду, аккумулируются почвами. Затем они мигрируют в природные воды, поглощаются растениями и поступают в пищевые цепи [215]. Обзор по присутствию загрязнителей в окружающей среде и пищевой цепи в Казахстане за последние 25 лет представлен в статье A. Baubekova et al. (2018) [216]. Содержание ТМ в почвах и растительности различных регионов Казахстана рассматривается в работах [210,211,217,218]. Проблема

устойчивости сельскохозяйствен-ных зерновых культур, в частности пшеницы и ячменя, к действию таких ТМ весьма приоритетна для нашей страны [219].

Нами ранее установлена специфичность в накоплении ТМ в зерне районированных сортов яровой пшеницы для различных агроэкологических зон республики. Содержание меди в пробах зерна различных сортов пшеницы с Алгинского сортоучастка на 25% превышало таковой показатель в зерне, выращенном на Комсомольском участке Западно-Казахстанской области, а по накоплению свинцы наблюдалась обратно пропорциональная зависимость. Несмотря на вариабельность в содержании ТМ у различных сортов пшеницы как в разных агроландшафтных зонах их производства, так и на отдельных участках внутри одной агрозоны, уровень ТМ в зерне не превышал ПДК согласно ТР ТС 015/2011 «О безопасности зерна» [220], что является чрезвычайно важным для пищевой ценности казахстанского зерна [221, 222].

Проведена серия опытов, устанавливающая отрицательную корреляцию между накоплением биомассы и интенсивностью ростовых процессов к действию ТМ у пшениц-двуручек в озимом и яровом посевах. Ингибирование роста корней и вегетативной массы проявлялось в разной мере для различных металлов и сортов пшеницы. Выделились наиболее металлоустойчивые линии сортов: Интенсивная, Память, Безостая 1, Комсомольская 1, Жетысу и другие [223].

На основании ранее проведенной работы по подбору оптимальной концентрации ТМ в опытах с интрогрессивными формами пшеницы использовали стрессовую концентрацию 20 мг/л, т.е. наиболее показательную для проявления генотипи-ческих различий между растениями [223].

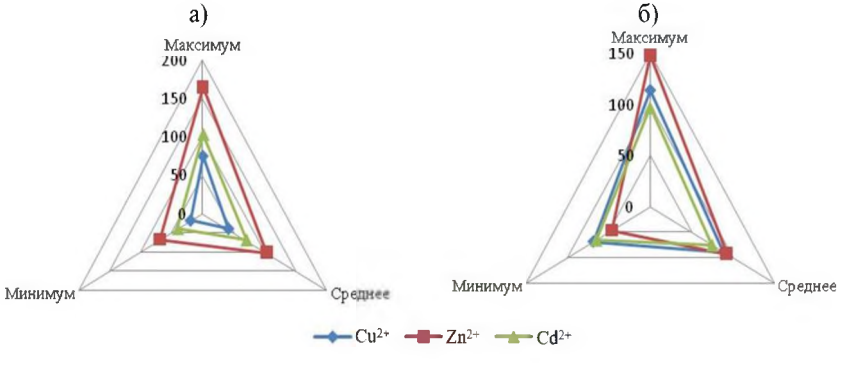
Двухдневные интрогрессивные линии незначительно отличались по всхожести на среде, содержащей соли различных ТМ (табл.17).

Полученные данные свидетельствуют в пользу включения механизма избегания растениями указанной дозы ТМ в различной степени у сравниваемых форм пшеницы. Высокая всхожесть зерна свидетельствует о запуске метаболических процессов адаптации, которые должны обеспечить устойчивость пшеницы в условиях более продолжительного металлического стресса, что находит подтверждение в работах [214, 225].

Таблица 17. Влияние ТМ на всхожесть интрогрессивных форм пшеницы, % от числа посеянного зерна

Интрогрессивные формы пшеницы	контроль	Cu^{2+}	Cd^{2+}	Zn^{2+}
ПЭГ 231 х Карлыгаш	100,0±0,02	94,4±0,03	88,8±0,02	96,6±0,02
Эритроспермум 350 х *T. militinae*	98,2±0,03	98,2±0,04	94,7±0,05	99,2±0,03
ПЭГ 1718	100,0±0,01	88,2±0,03	90,4±0,03	100,0±0,03
ПЭГ 304 х Комсомольская1	95,5±0,02	90,3±0,02	89,0±0,04	92,9±0,03
Жетысу х *T. timopheevii*	97,2±0,04	93,4±0,02	91,8±0,03	94,4±0,04
Стекловидная 24 х *T. militinae*	99,4±0,01	99,8±0,05	92,2±0,03	99,5±0,03
Жетысу х *T. militinae*	98,2±0,03	95,6±0,04	95,6±0,01	98,8±0,02

7-дневные проростки пшеницы характеризовались широкой вариабельностью в реагировании на ионную токсичность. Размах изменчивости ростовых показателей изучаемых форм пшеницы по каждому из металлов представлен на рисунке 45.



а) корни, б) побеги

Рисунок 45. Размах изменчивости ростовых показателей интрогрессивных форм пшеницы при действии ТМ

Корневая система проростков интрогрессивных форм была представлена 3-5 корешками, причем их длина существенно уменьшалась под влияние солей Cu^{2+} и Cd^{2+}, что согласуется с исследованиями [226].

Изменчивость в реагировании корневых систем интрогрессивных форм пшеницы на действие ТМ колебалась в широких пределах от 54 до 96 % по отношению к контролю и выстраивалась в последовательность: $Cu^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+}$.

Для вегетативной части проростков размах вариабельности составлял от 32 до 100 % к контролю, а характер изменчивости несколько менялся: $Cd^{2+} > Cu^{2+} > Zn^{2+}$. По средним значениям ростовых показателей корней всех изучаемых форм пшеницы ингибирование ионами Cu^{2+} происходило более чем в 2 раза. Для всех форм ингибирование побегов наблюдалось под влиянием Cd^{2+} – в 1,35 раз, а ионы Cu^{2+} и Zn^{2+} по средним значениям не вызывали существенного снижения ростовых параметров вегетативной части проростков.

Наибольший размах изменчивости, характеризующийся максимальным отклонением от среднего (σ), прослеживался для Zn^{2+} как в опытах с корнями, так и на побегах. Выделялись формы, для которых приспособление к содержащимся в питательной среде ионам Zn^{2+} стимулировало прорастание: Эритроспермум 350 х *T. militinae* (корни) на 15 %; Жетысу х *T. militinae* (корни и побеги) на 65 % и 48 % соответственно; Стекловидная 24 х *T. militinae* (побеги) на 13 % [227].

Среди диких сородичей выделились *T. militinae* и *T. timopheevii*, среди сортов – Жетысу, Эритроспермум 350, Безостая 1, характеризующиеся более устойчивым уровнем ростовых процессов корня и вегетативной массы проростков в ответ на действия металлического стресса различной ионной природы.

Характер изменчивости в степени реагирования сравниваемых форм пшеницы на действие различных металлов представлен на рисунке 46. Значительный эффект угнетения роста вызывали соли Cu^{2+} и Cd^{2+}. Ингибирование прорастания корней происходило в среднем на 40-60 % при действии этих металлов. Ионы Zn^{2+} даже стимулировали прорастание некоторых интрогрессивных форм. В целом ростовые реакции интрогрессивных

форм пшеницы свидетельствуют о широкой норме реакции генотипов на действие металлического стресса.

Проведенные исследования позволили установить: широкую норму реакции интрогрессивных форм пшеницы на действие ТМ; их генотипическую специфичность в реагировании на экологический стресс, вызванный ионной токсичностью; специфичность влияния различных ТМ на прорастание изучаемых форм пшеницы.

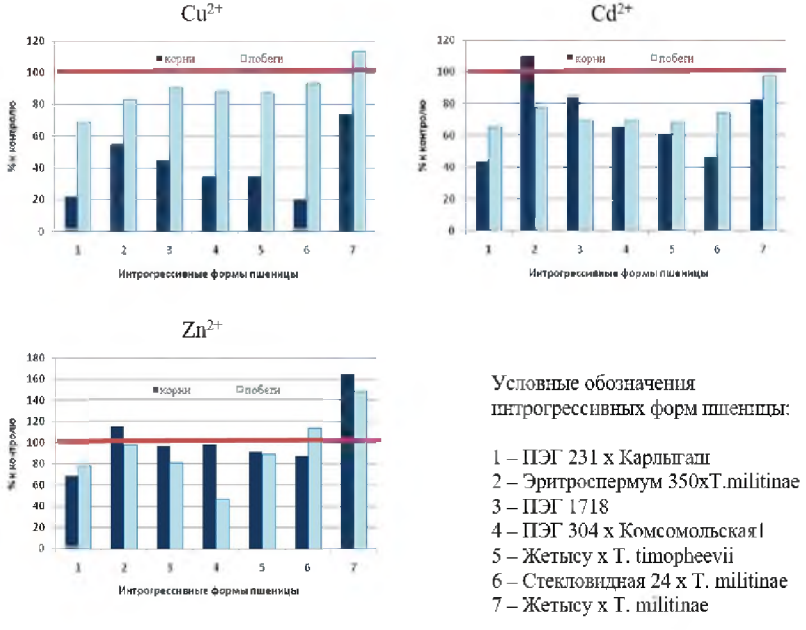


Рисунок 46. Влияние солей различных ТМ на прорастание интрогрессивных форм пшеницы

Наибольшему ингибированию ростовых процессов под влиянием ТМ подвержены интрогрессивные формы: ПЭГ 231 х Карлыгаш; ПЭГ 304 х Комсомольская 1; Жетысу х *T. timopheevii*. Замечены формы, ростовые реакции которых на металлический стресс противоположны общей тенденции ингибирования: Жетысу х *T. militinae* (побеги) на фоне Cu^{2+}; Эритроспермум 350 х *T. militinae* (корни) на фоне Cd^{2+} и Zn^{2+}; Стекловидная 24 х

T. militinae (побеги) на фоне Zn^{2+}; Жетысу x *T. militinae* (корни и побеги) на фоне Zn^{2+} [221].

Несмотря на высокую согласованность в функционировании корней и надземной части растений, между ими имеется конкуренция за использование питательных веществ, и влияние ионной токсичности по-разному сказывается на росте корневой и надземной систем. Причем, для растений – исключателей, в частности пшеницы и ячменя, характерно достаточно яркое проявление «барьерной», «накопительной» и «фильтрующей» функций тканей корня. При этом надземная часть «страдает» гораздо меньше, что обуславливается «эффектом задержания» в корнях ионов металлов и согласуется с работами [226, 212, 214]. В данной серии опытов этот эффект наиболее четко проявляется при адаптации интрогрессивных форм пшеницы к действию ионов Cu^{2+}, а соотношение ростовых реакций побег/корень является наиболее высоким (1,5-2σ).

Ранее проведенными экспериментами подтверждена «барьерная» функция корня в накоплении ТМ и показано распределение ионов Cu^{2+} по органам проростков различных сортов ячменя, выявленное методом атомно-абсорбционной спектрометрии. Установлено, что содержание меди в побегах колебалось в интервале 20-80 мг/г растительной навески, а в корнях -10-80 x10^2 мг/г растительной навески. Коэффициент накопления ионов Cu^{2+} в корнях в 5-30 раз превышал таковой в побегах в зависимости от сорта. Прослеживалась сортовая специфичность в накоплении металла [216]:

Арна < Донецкий 8< Черниговский 5

Для количественного сравнения металлоустойчивости и определения специфичности в реагировании интрогрессивных форм на действие ТМ применяли коэффициент Уилкинса, рассчитываемый по формуле

К = Lme/Lk, где L – суммарная длина корней.

По коэффициенту Уилкинса формы пшеницы образуют следующие ряды:

Cu^{2+}: Стекловидная 24 х *T. militinae* < ПЭГ 231 х Карлыгаш < < Жетысу х *T.timopheevii* < ПЭГ 304 х Комсомольская 1 < < ПЭГ 1718 < Эритроспермум 350 х *T. militinae* < < Жетысу х *T. militinae*

Cd^{2+}: ПЭГ 231 х Карлыгаш < Стекловидная 24 х *T. militinae* < < Жетысу х *T. timopheevii* < ПЭГ 304 х Комсомольская 1 < < Жетысу х *T. militinae* < ПЭГ 1718 < < Эритроспермум 350 х *T. militinae*

Zn^{2+}: ПЭГ 231 х Карлыгаш < Стекловидная 24 х *T. militinae* < < Жетысу х *T. timopheevii* < ПЭГ 1718 < < ПЭГ 304 х Комсомольская 1 < < Эритроспермум 350 х *T. militinae* < Жетысу х *T. militinae*.

Отсутствие значительного эффекта ингибирования всхожести зерна в среде, содержащей ТМ, свидетельствует о существующем потенциале интрогрессивных форм пшеницы в развитии адаптации к металлическому стрессу и перспективах использования межвидовой гибридизации пшеницы с дикими видами. Выявлены гибридные комбинации с участием *T. militinae*, проявляющие устойчивость ростовых процессов к действию ТМ, например, интрогрессивная форма пшеницы Жетысу х *T. militinae*.

Влияние тяжелых металлов на накопление свободного пролина в листьях проростков интрогрессивных форм пшеницы. На фоне выращивания проростков на растворах солей ТМ установлено увеличение содержания свободного пролина у интрогрессивных форм пшеницы в разной степени.

Данные по наиболее характерным генотипам, отражающим изменениям свободного пролина у интрогрессивных форм пшеницы под действием металлического стресса, представлены на рисунке 47.

Установлено, что интрогрессивная форма ПЭГ 304 х Комсомольская 1 характеризуется более высоким уровнем реагирования на действие ТМ, особенно, ионов цинка и меди. Образец Жетысу х *T. timopheevii* отличался в 2-3 раза более

низкими показателями содержания свободного пролина в ответ на металлический стресс.

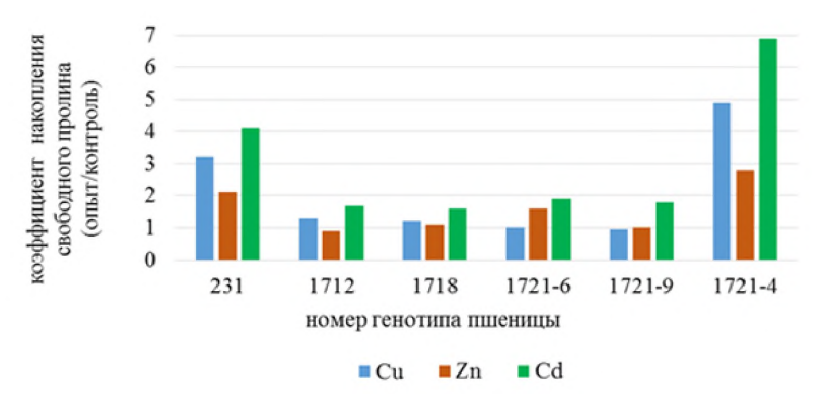


Рисунок 47. Коэффициент накопления свободного пролина в листьях проростков интрогрессивных форм пшеницы на фоне действия солей тяжелых металлов Условные обозначения генотипов пшеницы: 231 – (Безостая1 х *Ae. triaristata*) х Карлыгаш; 1712 – Эритроспермум 350 х *T. militinae*; 1718 –Безостая1 х *Ae. cylindrica*; 1721-6 - (Безостая1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-6 1721—9 - (Безостая1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-9 1721 – 4 - (Безостая1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-4

Максимальное накопление свободного пролина отмечено под влиянием солей Cd^{2+} и Cu^{2+}, меньшее – под действием соли Zn^{2+}. Например, у интрогрессивной формы (Безостая 1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-9 наблюдалось увеличение в содержании пролина на фоне ионов Cd^{2+} в более чем 4 раза, ионов Cu^{2+} – в 3,5 раза, у (Безостая 1 х *Ae. triaristata*) х Карлыгаш отмечен факт накопления пролина при действии соли Cd^{2+} в 7 раз, а Cu^{2+} – в 5 раз.

Ранее установлено повышение уровня пролина в листьях проростках разных сортов пшениц-двуручек озимого и ярового посевов под влиянием металлического стресса, вызванного действием аналогичных солей. Причем для яровых форм такая закономерность проявлялась в большей степени, до 4 раз по сравнению с контролем [223].

Приведенные результаты свидетельствуют в пользу применения свободного пролина для оценки степени устойчивости изучаемых форм пшеницы к действию ТМ [223].

Установленная закономерность в аккумуляции свободного пролина в листьях проростков озимой, яровой пшеницы, гибридов озимой пшеницы с дикими сородичами под влиянием ТМ положена в основу разработанного нами «Способа распознавания генотипов пшеницы по устойчивости к тяжелым металлам» и защищена Патентом РК 3044, раздел 4.5 [182]. Это подтверждает мысль об универсальности данного показателя для изучения жизнедеятельности растений, переживающих воздействия экстремальных факторов среды.

Полученные данные коррелируют с исследованиями [229], выявившими высокую устойчивость представителей видов *T. timopheevii*, *T. trianciale* к ТМ. Показано, что дикие сородичи обладают повышенной по сравнению с сортами металлоустойчивостью, обусловленной включением механизмов избегания стрессора, будь то засуха или действие ТМ. Резистентность растений озимой пшеницы к солям свинца и цинка может быть обусловлена устойчивостью их клеточных мембран к действию стресса [226].

В обзоре Н. В. Новоселовой и А. В. Бакулиной рассмотрены перспективы использования ДНК-маркеров в селекции ячменя на устойчивость к токсичности ионов алюминия, бора, марганца и кадмия [75]. В целом, устойчивость пшеницы к сравнительно «молодому в эволюционном плане» антропогенному фактору – ТМ, носит как неспецифический, так и специфический характер и формируется за счет адаптивных защитно-приспособительных реакций, проявляющихся в ответ на действие абиотических факторов.

5.5. Систематизация данных по оценке диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы по зимо-, морозостойкости, засухоустойчивости и устойчивости к тяжелым металлам

На рисунке 48 приведена модель проводимых исследований.

Модель разработана на основе комплексного подхода к изучению физиолого-биохимических критериев устойчивости к абиотическим факторам среды генотипов озимой пшеницы диких, культурных и интрогрессивных форм (рис. 48). Обоснованы направления и выбор показателей для оценки засухоустойчивости, зимо-,

морозостойкости и устойчивости к ТМ изучаемых форм пшеницы.

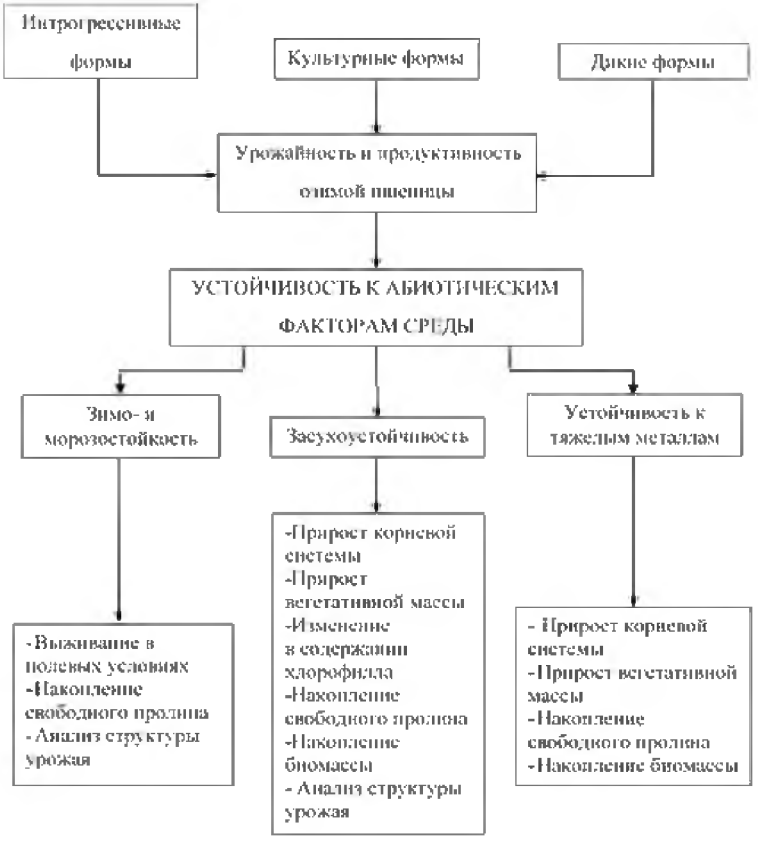


Рисунок 48. Комплексная модель изучения физиолого-биохимических критериев устойчивости к абиотическим факторам среды генотипов озимой пшеницы диких, культурных и интрогрессивных форм

Проведена итоговая кластеризация генотипов по выявлению их сходства-различий по комплексу адаптивных свойств, продуктивности и общей урожайности (рис. 49).

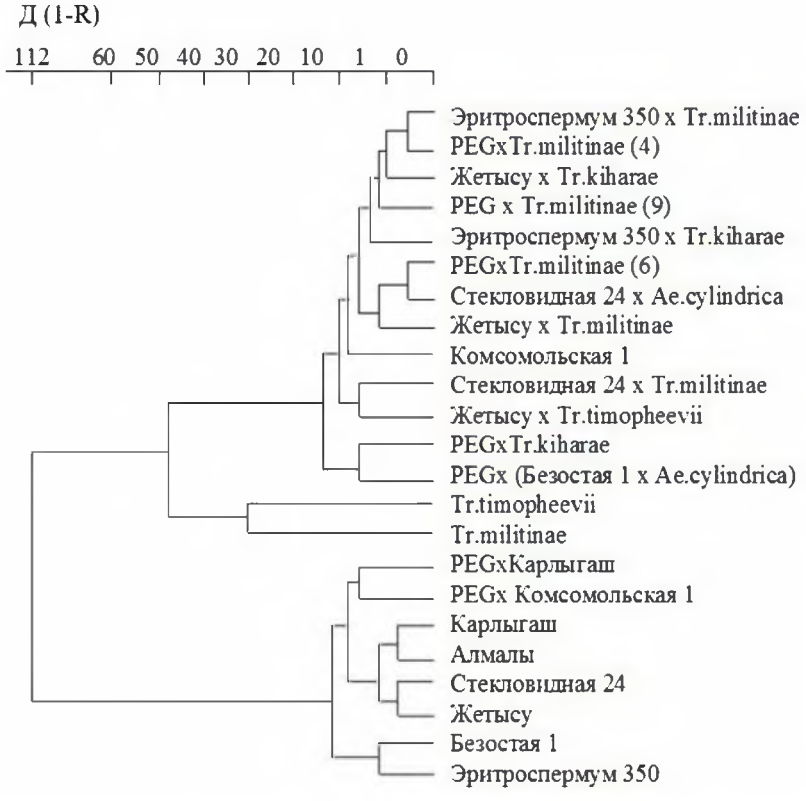


Рисунок 49. Дендрограмма сходства-различий диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы по комплексу адаптивных свойств, продуктивности и общей урожайности

Прослеживается четкая тенденция на объединение в более крупный кластер интрогрессивных и диких, а второй кластер, в основном, представлен сортовым разнообразием. Дендрограмма подтверждает полученные нами результаты о том, что интрогрессивные формы тяготеют по своим адаптационным свойствам к диким сородичам, а по хозяйственно-ценным признакам превосходят родительские сорта и сорт-стандарт.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе роста и развития растения, в т.ч. зерновые культуры, подвергаются влиянию различных экологических стрессовых факторов, в числе которых низкие и высокие температуры, засуха, засоление, ТМ и другие. Климатические изменения, нерациональная хозяйственная деятельность человека усиливают действие экологических стрессоров, что приводит к снижению урожайности и продуктивных качеств ведущих зерновых культур – пшеницы и ячменя.

В основе формирования стресс-устойчивости растений лежит адаптивный потенциал, под которым понимается способность индивида к выживанию, воспроизведению, саморазвитию и саморегуляции в постоянно изменяющихся условиях внешней среды «за счет взаимосвязанного функционирования программ адаптации: онтогенетической или индивидуальной и филогенетической или популяционной» [10].

В литературе термин «адаптивный потенциал» нередко заменяется «общей адаптационной способностью» (ОАС), т.е. рассматривается реальная, практическая реализация такого потенциала у сельскохозяйственных растений. Знаменитый принцип Н.И. Вавилова «генотип доминирует над средой» справедлив для зерновых культур, имеющих высокий уровень проявления адаптивного потенциала в реальных, практических условиях существования, что характеризуется их ОАС [50].

ОАС зерновых культур представляет собой диалектическое единство таких противоположностей, как изменчивость и стабильность, гибкость и устойчивость, дифференцированность и функциональная целостность как отдельных компонентов, как и всей системы растений.

Наряду с генетически детерминированной специфической адаптацией, большое значение имеют неспецифические общебиологические механизмы защиты метаболизма растений от неблагоприятного воздействия факторов среды.

Теоретические обобщения и собственные экспериментальные работы дают основания отнести к числу универсальных механизмов устойчивости изменения активности пероксидазного комплекса и содержания свободного пролина, рассматривая их, как

разновидность стрессовых, защитных механизмов клеточной адаптации зерновых культур.

Испытание интрогрессивных форм ячменя и пшеницы, содержащих гермоплазму диких сородичей, показало перспективу использования дикорастущих видов для повышения адаптивности зерновых культур к экологическим стрессовым факторам.

Детализируя вышесказанное, приводим основные результаты исследований:

I. По изучению влияния низкотемпературного стресса, создаваемого в морозильных камерах в условиях разработанного режима охлаждения до -5…-7 °С проростков озимой пшеницы:

– выявлена сортовая специфичность в норме реагирования на низкотемпературный стресс активности свободных и связанных пероксидаз, катодных и анодных электрофоретических форм, отдельных изозимов и их групп, также определены коэффициенты корреляции между применяемым режимом охлаждения и активностью индивидуальных изопероксидаз;

– установлены общие тенденции в низкотемпературной адаптации пшениц: появление адаптивных изозимов пероксидазы, как правило, в катодном электрофоретическом спектре; повышение общей активности фермента за счет возрастания доли катодных и снижения активности анодных изоформ; изменение субстратной специфичности изопероксидаз;

– методами ЭФ и ИЭФ в ПААГ обнаружена высокая гетерогенность и разнокачественность изопероксидаз, связанная с качественной и количественной изменчивостью изозимов в условиях охлаждения. Наиболее ценную информацию при этом может дать определение удельной активности пероксидаз в ПААГ;

– выявлена степень сходства-различий между сортами и глиадиновыми биотипами пшеницы Богарная 56 в норме реагирования на низкотемпературные воздействия;

– определены количественные критерии, позволяющие дифференцировать генотипы озимой пшеницы по уровню морозостойкости: коэффициент изменчивости (Ки) активности свободных, связанных и катодных изопероксидаз; коэффициент устойчивости (Ку), обусловленный активностью связанных пероксидаз

после охлаждения; маркерные катодные изозимы пероксидазы А25 и А32, относительная активность которых связана со степенью морозостойкости сортообразца;

– впервые выявлены молекулярные маркеры морозоустойчивости озимой пшеницы – А25 и А32 изопероксидазы, определен их аминокислотный состав и средняя гидрофобность. Степень морозостойкости, рассчитанная по А25 изопероксидазе, повышается с уменьшением коэффициента изменчивости, а по А32 изопероксидазе, наоборот, с его увеличением. В электрофоретических спектрах катодных пероксидаз после охлаждения А32 изопероксидаза присутствует только у озимых форм пшениц и не встречается у яровых;

– на основании количественной изменчивости А25 и А32 изопероксидаз разработан и внедрен в практику новый прижизненный метод оценки озимой пшеницы на морозостойкость. Установлены высокие коэффициенты корреляции (R = 0,81-0,85) между результатами данного метода и метода определения морозостойкости по интенсивности накопления проростками пшеницы свободного пролина.

II. По изучению содержания свободного пролина в листьях проростков и зерне у различных зерновых культур:

– обнаружена сортовая специфичность озимой пшеницы в реагировании на низкотемпературный стресс, создаваемый в морозильных камерах при охлаждении проростков до 0…-2 °С, позволяющий определять уровень их морозоустойчивости;

– установлено, что содержание пролина в зерне озимых форм ячменей-двуручек почти в 2,5-3 раза выше, чем у яровых, что позволяет дифференцировать озимые и яровые формы ячменя по типу развития;

– выявлены различия дигаплоидных линий пшеницы по накоплению свободного пролина в листьях проростков, выращенных в условиях осмотического стресса, что может послужить основанием для диагностики их засухоустойчивости;

– показана возможность распознавания генотипов пшеницы по устойчивости к солям ТМ – меди (Cu^{2+}), кадмия (Cd^{2+}) и цинка

(Zn^{2+}) по соотношению накопления свободного пролина опытными и контрольными растениями;

– установлено, что способность зерновых культур адаптироваться к экстремальным условиям произрастания связана, наряду с другими приспособительными реакциями, с накоплением в зерне пролина, что коррелирует с представлением о функциональной значимости этой аминокислоты, как резервного метаболита, потенциального источника азота и энергии для обеспечения устойчивого роста последующей генерации растений. Установлено, что накопление свободного пролина в зерне зерновых культур подчиняется следующей закономерности:

ячмень > рожь > тритикале > пшеница

Содержание пролина в зерне было выше на фоне применения удобрения (P_{60}), что характерно для всех зерновых культур и наиболее четко проявляется в засушливые годы;

– обнаружено, что сорта – стандарты культурного ячменя характеризовались меньшим диапазоном изменчивости в содержании пролина, чем израильские и туркменские популяции диких сородичей, что подтверждено в зависимости от климатических условий года и места выращивания. Уровень свободного пролина в зерне был выше при выращивании ячменя на богаре, по сравнению с орошаемым посевом. Накопление пролина в зерне у гибридов происходило по промежуточному типу и/ или уклонения в сторону лучшего из родителей.

III. Показана целесообразность интегрального подхода к определению ОАС зерновых культур:

– обнаружена специфичность в накоплении пролина на уровне: различных зерновых культур, сортов, диких сородичей и культурных форм, озимых, яровых и гибридных комбинаций, органов растения (зерно, листья проростков), а также условий выращивания (климатические по годам, влагообеспечение посевов, минеральное питание) и действия низкотемпературного стресса, что позволяет рассматривать его в качестве информативного критерия ОАС растений;

– установлено, что наряду со свободным пролином, такие показатели продуктивности, как «высота растения», «продуктивная кустистость», «масса зерна с растения», а также содержание белка и

его фракций в зерне диких и культурных форм ячменя являются достаточно четкими индикаторами изменчивости внешней среды и могут использоваться в характеристике их ОАС.

IV. Экспериментально подтвержден комплексный подход к изучению устойчивости озимой пшеницы к абиотическим факторам среды на основе поиска критериев физиолого-биохимической адаптации растений к низким температурам при перезимовке, влиянию засухи, действию солей ТМ. Расширение нормы реакции генотипов на действие абиотических стрессоров достигается вовлечением гермоплазмы диких сородичей в селекционный процесс, испытанием интрогрессивных форм озимой пшеницы.

Изменения метаболизма зерновых растений, связанные с развитием засухо-, зимо-, морозостойкости и устойчивости к ТМ, обусловили направления для выбора критериев адаптации.

Обосновано использование следующих показателей для оценки засухоустойчивости: накопление биомассы, сила корневого роста, изменение в содержании хлорофилла и накопление свободного пролина в проростках, анализ структуры урожая и продуктивности; для характеристики зимо- и морозостойкости – процент выживших растений после перезимовки, промораживание в морозильных камерах, накопление свободного пролина; для оценки металлоустойчивости - биометрические характеристики роста и развития пшеницы.

Установлено в большинстве экспериментов, что устойчивость к различного рода абиотическим стрессам, убывает в ряду:

дикие сородичи > интрогрессивные формы > сорта

Выделены выдающиеся генотипы внутри каждой из групп, которые превышают средние значения по устойчивости к определенному или группе абиотических факторов:

– установлена 100 % перезимовка интрогрессивных форм озимой пшеницы. Выявлены генотипы, проявившие лучший результат по сохранению жизнеспособности после промораживания и увеличению уровня свободного пролина в ответ на низкотемпера-

турный стресс: *Ae. cylindrical, T. kiharae* (дикие формы); Эритроспермум 350 х *T. kiharae*, Стекловидная 24 х *T. timopheevii* (интрогрессивные формы); Прогресс, Эритроспермум 350 (сорта);

– показано, что интрогрессивные формы превосходят по индексу NDVI диких сородичей и сорта. По накоплению вегетативной массы в разные фазы лидировали – Эритроспермум 350 х *T. kiharae*, Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica*; (Безостая 1 х *T. militinae*) х *T. militinae* и др.;

– по содержанию хлорофилла в фазу трубкования лидировали Эритроспермум 350 х *T. militinae* и Безостая 1 х *Ae. cylindrica*, а на стадии налива зерна – Жетысу х *T. militinae*;

– определены перспективные в селекции на засухоустойчивость генотипы: среди диких форм – Т. *kiharae*, *Ae. cylinrica*; интрогрессивных форм – Эритроспермум 350 х *T. kiharae*, (Безостая1 х *T. militinae*) х *T. militinae*; сортов – Эритроспермум 350, Стекловидная 24. В лабораторных опытах содержание пролина в листьях проростков изучаемых форм пшеницы увеличивалось по мере роста ионной силы сахарозы;

– установлены диапазоны изменчивости по мощности корневого роста, выявлены перспективные образцы: Эритроспемум 350 х *T. kiharae*; Жетысу х *T. militinae*; Эритроспермум 350; *T. kiharae; Ae. triaristata*;

– выделены источники засухоустойчивости среди интрогрессивных форм пшеницы на фоне продуктивности по основным показателям и урожайности: по «масса 1000 зерен» и «масса зерна в главном колосе» – Эритроспермум 350 х *T. kiharae*; Жетысу х *T. militinae*; Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica*; по «высоте растения» – (Безостая 1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-9 и Безостая 1 х *Ae. cylindrica*. Все интрогрессивные формы превосходили по урожайности сорт – стандарт Алмалы.

– установлена широкая норма реакции диких, культурных и интрогрессивных форм пшеницы на действие ТМ (солей Zn^{2+}, Cu^{2+}, Cd^{2+}), специфичность влияния различных ТМ на прорастание изучаемых форм пшеницы. Среди диких сородичей выделились *T. militinae* и *T. Timopheevii*; среди сортов – *Жетысу*, Эритроспермум 350, Безостая 1. Выявлены гибридные комбинации с

участием T. militinae, проявляющие устойчивость ростовых процессов к действию ТМ.

Показана целесообразность сочетания полевых и лабораторных методов анализа, проведения измерений в различные фазы онтогенеза, использования новых технологий – NDVI, WinRHIZOROOT для определения достоверности критериев устойчивости пшеницы.

Разработана модель изучения физиолого-биохимических критериев устойчивости к абиотическим факторам среды, включающая применение методов математической статистика – кластерного и корреляционно-регрессионного анализов для установления сходства – различий в реакции генотипов зерновых культур на стрессовые воздействия.

V. Рекомендации биологам, экологам и селекционерам использовать в практической деятельности следующие разработки:

– Метод прижизненной оценки морозостойкости пшеницы по активности маркерных изопероксидаз [145];

– Способ определения устойчивости генотипов пшеницы к стрессовым факторам, Патент РК № 8174 [102];

– Способ распознавания озимых и яровых форм пшеницы, Патент РК № 8175 [146];

– Способ распознавания генотипов пшеницы по устойчивости к тяжелым металлам, Патент РК [182];

– Комплексный подход к изучению ОАС сельскохозяйственных растений, сочетающий проведение лабораторных и полевых опытов, многомерную математическую статистику для обработки результатов. Он основан на определении физиолого-биохимических критериев адаптации, таких как активность пероксидазного комплекса, содержание свободного пролина, а также оценке показателей продуктивности и урожайности в распознавании устойчивых к экологическим стрессам генотипов зерновых культур. Целесообразно использовать потенциал диких сородичей для создания гибридных форм зерновых культур с последующим отбором ценных генотипов, обладающих повышенной устойчивостью к неблагоприятным факторам среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mareri L., Parrotta L., Cai G. Environmental Stress and Plants // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – V. 23(10). – 5416. https://doi.org/10.3390/ijms23105416.
2. Nawaz M., Sun J., Shabbir S., Khattak W. A., Ren G., Nie X., Bo Y., Javed Q., Du D., Sonne C. A review of plants strategies to resist biotic and abiotic environmental stressors // Science of The Total Environment. – 2023. – V. 900. –165832. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165832.
3. Shmelev S. E., Salnikov V., Turulina G., Polyakova S., Tazhibayeva T., Schnitzler T. and Shmeleva I. A. Climate Change and Food Security: The Impact of Some Key Variables on Wheat Yield in Kazakhstan // MDPI Sustainability. Switzerland. – 2021. – V. 13. – 8583. https://doi.org/10.3390/su1315858
4. Levitt J. Responses of Plants to Environmental Stresses. – Academic Press: New York, 1972. – 698 pp.
5. Хочачка П. Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. – М.: Мир, 1977. – 398 с.
6. Туманов И.И. Физиология закаливания и морозостойкость растений. – М.: Наука, 1979. – 349 с.
7. Генкель П. А. Физиология жаро- и засухоустойчивости. – М.: Наука, 1982. – 279 с.
8. Гродзинский Д.М. Надежность растительных систем. – Киев: Наукова думка, 1983. – 368 с.
9. Полимбетова Ф.А. Морозостойкость озимой пшеницы в Казахстане. - Алма-Ата: Наука, 1986.-168 с.
10. Жученко А.А. Адаптивный потенциал культурных растений. Эколого-генетичнеские основы. – Кишинев «ШТИИНЦА», 1988. – 768 с.
11. Удовенко Г.В. Устойчивость растений к абиотическим стрессам // Физиологические основы селекции. Теоретические основы селекции. – СПб.: Изд-во ВИР, 1995. – Т. 2. – Ч. 1. – С. 293-352.
12. Plant responses to environmental stresses /edited by Lerner H.R. – Taylor & Fracis Group. LLC, 1999. – 750 p.
13. Тарчевский И.А. Метаболизм растений при стрессе. – Казань: Фэн, 2001. – 448 с.
14. Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс // 64-е Тимирязевские чтения. – Москва: Наука, 2007. – 54 с.
15. Plant stress physiology / edited by Sergey Shabala. – Cambridge, MA: CABI, 2012. – 318 p.
16. Biochemical, physiological and molecular avenues for combating abiotic stress in plants / edited by Shabir Hussain Wani. – Academic Press is an imprint of Elsevier, 2017. – 345 pp. https://www.sevier.com/books-and-journals.
17. Ahanger M.A., Akram N.A., Ashraf M., Alyemeni M.N., Wijaya L., Ahmad P. Plant responses to environmental stresses – from gene to biotechnology // An open-access journal for environmental and evolutionary plant biology AoB. – 2017. – PLANTS 9: plx025. DOI:10.1093/aobpla/plx025.

18. Responses of Plants to Environmental Stresses / edited by Renata Szyma´nska. – MDPI. Basel, Switzerland, 2021. – 256 p.

19. Hassan M.A., Xiang C., Farooq M., Muhammad N., Yan Z., Hui X., Yuanyuan K., Bruno A.K., Lele Z. and Jincai L. Cold Stress in Wheat: Plant Acclimation Responses and Management Strategies // Frontiers in Plant Science. – 2021. – V. 12. – 676884. DOI: 10.3389/fpls.2021.676884.

20. Титов А.Ф., Казнина Н.М., Шибаева Т.Г. Растения в условиях стресса. Ведущая научная школа России по экологической физиологии растений // Труды Карельского научного центра РАН. – 2023. – № 3. – С. 26-46. DOI: 10.17076/eco1772.

21. Rana Munns, A Harvey Millar Seven plant capacities to adapt to abiotic stress // Journal of Experimental Botany. – 2023. – V. 74. – Issue 15. – P. 4308–4323. https://doi.org/10.1093/jxb/erad179.

22. Shah S.H., Carlson J.E., Niklas K.J., Benavides-Mendoza A., Ricachenevsky F.K. Deciphering mechanisms of plant adaptation and resistance under cold temperature stress // Frontiers in Plant Science. – 2024. – V. 15. – 1460573. DOI: 10.3389/fpls.2024.1460573.

23. Чудинова Л.А., Орлова Н.В. Физиология устойчивости растений. – Пермь: Пермский университет, 2006. – 124 с.

24. Усманов И.Ю., Рахманкулова З.Ф., Кулагин А.Ю. Экологическая физиология растений. – М.: Логос, 2001. – 224 с.

25. Федулов Ю.П., Котляров В.В., Доценко К.А. Устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды. – Краснодар: КубГАУ, 2015. – 64 с.

26. Селье Г. На уровне целого организма. – М.: Наука, 1972. – 122 с.

27. Яковец О.Г. Фитофизиология стресса. – Минск: БГУ, 2009. – 101 с. https://bsu.bio/fbr/files/lecture_notes_plant_stress_physiology_bio.pdf.

28. Memoona Khalid, Hafiz Mamoon Rehman, Nisar Ahmed, Sehar Nawaz, Fozia Saleem, Shakeel Ahmad, Muhammad Uzair, Iqrar Ahmad Rana, Rana Muhammad Atif, Qamar U Zaman, Hon-Ming Lam. Using Exogenous Melatonin, Glutathione, Proline, and Glycine Betaine Treatments to Combat Abiotic Stresses in Crops // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – V. 23(21). – 12913. DOI: 10.3390/ijms232112913.

29. Кузнецов Вл.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. – 1999. – Т. 46. – № 2. – С. 321-336.

30. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2002. – 244 с.

31. Хозеева Е.В., Зимина Ю.А., Сроslова Г.А. Окислительный стресс растений: химия, физиология, способы защиты // Природные системы и ресурсы. – 2020. – Т. 10. – № 4. – С. 30-43. https://doi.org/10.15688/nsr.jvolsu.2020.4.4

32. Manu P. Gangola, Bharathi R. Ramadoss. Sugars play a critical role in abiotic stress tolerance in plants // Biochemical, physiological and molecular avenues for combating abiotic stress in plants. Editor Shabir Hussain Wani. – Academic Press is an imprint of Elsevier. – 2017. – 345 p. https://www.sevier.com/books-and-journals.

33. Косаковская И.В. Стрессовые белки растений. – Киев: Украинский фитосоциологический центр, 2008. – 151 с.

34. Кулаева О.Н. Белки теплового шока и устойчивость растений к стрессу // Соросовский образовательный журнал. – 1997. – № 2. С. 5-13.

35. Jinglei Wang, Haijiao Hu, Wuhong Wang, Qingzhen Wei, Tianhua Hu, Chonglai Bao. Genome-Wide Identification and Functional Characterization of the Heat Shock Factor Family in Eggplant (*Solanum melongena* L.) under Abiotic Stress Conditions // Responses of Plants to Environmental Stresses. Editor Renata Szyma´nska. – MDPI. Basel. Switzerland. – 2021. – P. 209-223.

36. Борисова Г.Г., Малева М.Г., Чукина Н.В. Растение и стресс / Федеральное агентство по образованию, Уральский государственный университет им. А.М. Горького, ИОНЦ «Экология и природопользование». – Екатеринбург, 2008. https://elar.urfu.ru/handle/10995/1580.

37. Jun Shigeto and Yuji Tsutsumi. Diverse functions and reactions of class III peroxidases // New Phytologist. – 2016. – V. 209. – P. 1395–1402. DOI: 10.1111/nph.13738.

38. Ghosh U.K., Islam M.N., Siddiqui M.N., Cao X., Khan M.A. R. Proline, a multifaceted signaling molecule in plant responses to abiotic stress: understanding the physiological mechanisms // Plant Biology (Stuttg.). – 2022. – V. 24(2). – P. 227-239. DOI: 10.1111/plb.13363.

39. Fischer R.A. Wheat Physiology: A review of recent developments // Crop and Pasture Science. – 2011. – V. 62. – № 2. – P. 95-114.

40. Климентова Е.Г., Сатаров Г.А., Зудова Т.А. Приспособление и устойчивость растений. – Ульяновск: УлГУ, 2006. – 53 с.

41. Пакудин В.З., Лопагина Л.М. Оценка экологической пластичности и стабильности сельскохозяйственных культур //Сельскохозяйственная биология. – 1984. – № 4. – С. 109-113.

42. Поганин В.Г., Алейников А.Ф., Степочкин П.И. Новый подход к оценке экологической пластичности сортов растений // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2014. – № 3. – Т. 18. – С. 548-552.

43. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: Учебник для вузов. – М.: Высш. шк., 2005. – 736 с.

44. Чегина О.А., Чудинова Л.А. Учебная практика по физиологии и биохимии растений. – Перм: Пермский государственный национальный исследовательский университет, 2018. – 94 с.

45. Жученко А.А. Генетическая природа адаптивного потенциала возделываемых растений / В сб. Идентифицированный генофонд растений и селекция. – СПб.: ВИР, 2005. – С. 36-101.

46. Конарев В.Г. Белки растений как генетические маркеры. – М.: Колос, 1983. – 320 с.

47. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. – М.: Наука, 1985. – 272 с.

48. Абугалиева А.И. Компоненты глиадина и субъединицы глютенина в селекции пшеницы на качество зерна. Автореф. дис. … д-ра. биол. наук. – Алмалыбак, 1994. – 52 с.

49. Теория и практика адаптивной селекции растений (Жученковские чтения VI): сб. научн. трудов по материалам Межд. научн.-практ. конф. / отв. за вып. А. Г. Кощаев. – Краснодар: КубГАУ, 2021. – 215 с.

50. Тажибаева Т.Л., Абугалиева А.И. К вопросу об изучении общей адаптационной способности ячменя // Материалы международной конференции «Развитие ключевых направлений сельскохозяйственной науки в Казахстане: селекция, биотехнология, генетические ресурсы». – Алматы: ТОО «Изд-во «Бастау», 2004. – С. 262-267.

51. Драгавцев В.А. О «пропастях» между генетикой и селекцией растений и путях их преодоления / В сб. Идентифицированный генофонд растений и селекция. – СПб.: ВИР, 2005. – С. 13-19.

52. Уразалиев Р.А, Абсаттарова А.С. Селекционно-генетические исследования зерновых культур в Казахстане // Вестник ВОГ и С. – 2005. – Т. 9. – № 3. – С. 415-422.

53. Waddington C.H. The strategy of genes. – London, 1957. – 274 p.

54. Тажибаева Т.Л. Пролин и общая адаптационная способность сельскохозяйственных растений // Вестник КазНУ.Серия биологическая. – 2010. – № 3(45). – С. 201-205.

55. Андреева В.А. Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений. – М.: Наука, 1988. – 128 с.

56. Tazhibayeva T.L. Peroxidases and wheat frost resistance // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2000. – № 3(11). – С. 107-109.

57. Pandey V.P., Awasthi M., Singh S., Tiwari S., Dwivedi U.N. A Comprehensive Review on Function and Application of Plant Peroxidases // Biochem & Anal Biochem. – 2017. – V. 6. – Issue 1. –1000308. DOI: 10.4172/2161-1009.1000308.

58. Молчан И.М. Генетические особенности пластичного сорта и принципы адаптивной селекции // Селекция и семеноводство. – 1993. – № 1. – С. 10-15.

59. Животков Л.А., Морозова З.А., Секутаев Л.И. Методика выявления потенциальной продуктивности и адаптивности сортов и селекционных форм озимой пшеницы по показателю «урожайность» // Селекция и семеноводство. – 1994. – № 2. – С. 3-6.

60. Косенко С. В. Адаптивный потенциал сортов озимой мягкой пшеницы в условиях Пензенской области // Зерновое хозяйство России. – 2024. – Т. 16. – № 2. – С. 75-79. DOI: 10.31367/2079-8725-2024-91-2-75-79.

61. Зеленов А.Н., Зеленов А.А. Некоторые аспекты агроэкологической характеристики сельскохозяйственных растений // Зернобобовые и крупяные культуры. – 2022. – № 1(41). – С. 36-44. DOI: 10.24412/2309-348X-2022-1-36-44.

62. Сариев Б.С. Селекция ярового ячменя на повышение урожайности и адаптивности в условиях Юго-Востока Казахстана // Вестник с-х науки Казахстана. – 1994. – № 4. – С. 24-29.

63. Хлесткина Е.К., Журавлева Е.В., Пшеничникова Т.А., Усенко Н.И., Морозова Е.В., Осипова С.В., Пермякова М.Д., Афонников Д.А., Отмахова Ю.С. Реализация генетического потенциала сортов мягкой пшеницы под влиянием условий внешней среды: современные возможности улучшения качества зерна и хлебопекарной продукции (обзор) // Сельскохозяйственная биология. – 2017. – Т. 52(3). – С. 501-514. DOI: 10.15389/Agrobiology.2017.3.501rus.

64. Уразалиев Р.А. Принципы и методы селекции зерновых культур на современном этапе // Вестник с.-х. науки Казахстана. – 2014. – № 1. – С. 3-18.

65. Кохметова А.М. Генетические основы стабильности и пластичности количественных признаков пшеницы. Автореф. дис. … д-ра. биол. наук. – Алматы, 2004. – 52 с.

66. Anuarbek S., Chudinov V., Sereda G., Savin T., Fedorenko E., Tsygankov V., Babkenov A., Tsygankov A., Amalova A., Turuspekov Y. Yield stability analysis of bread wheat genotypes in Kazakhstan // Experimental Biology. – 2024. – №3 (100). – P. 56-68. https://doi.org/10.26577/bb.2024.v100.i3.05

67. Генкель П.А. О сопряженной и конвергентной устойчивости растений // Физиология растений. – 1979. – Т. 26. – Вып. 5. – С. 921-929.

68. Тажибаева Т.Л., Перуанский Ю.В., Абугалиева А.И. Комплексная устойчивость генотипов пшеницы к стрессовым факторам внешней среды // Сб.: «Физиология и биохимия – неотъемлемое звено селекции». – Алматы, 1998. – С.19-23.

69. Huang H., Ullah F., Zhou D.-X., Yi M., Zhao Y. Mechanisms of ROS Regulation of Plant Development and Stress Responses // Frontiers in Plant Science. – 2019. – V. 10. – 800. DOI: 10.3389/fpls.2019.00800.

70. Богданова Е.Д., Полимбетова Ф.А., Гостенко К., Сариева Г.Е. Признак свёртывания листа в адаптации к засухе яровой пшеницы // Известия АН РК. Серия биологическая и медицинская. – 1999. – № 5. – С. 36-42.

71. Крупнов В.А. Засуха и селекция пшеницы: системный подход // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – № 1. – С. 12-23.

72. Плотников В.К., Евтушенко Я.Ю., Салфетников А.А., Репко Н.В., Насонов А.И. Биологические маркёры для селекции на морозоустойчивость озимых форм мягкой пшеницы и ячменя // Научный журнал КубГАУ. – 2014. – № 104(10). – С. 1-33. http://ej.kubagro.ru/2014/10/pdf/128.pdf.

73. Патент № 2652390 C1, Россия. МПК A01H 1/04. Способ определения потенциальной зимостойкости растений озимой мягкой пшеницы / Коновалов А.А., Кархардин И.В., Байбородин С.И., Гончаров Н.П., 2018.

74. Атабаева С.Д., Сарсенбаев Б.А. Физиолого-биохимические основы металлоустойчивости растений. – Алматы: «ST-Company», 2016. – 203 с.

75. Новоселова Н. В., Бакулина А. В. Молекулярные маркеры в селекции сортов ячменя, устойчивых к ионной токсичности // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2020. – Т. 21(1). – С. 7-17. https://doi.org/10.30766/2072-9081.2020.21.1.07-17.

76. Удовенко Г.В., Гончарова Э.А. Влияние экстремальных условий среды на структуру урожая сельскохозяйственных растений. – Л., 1982. – 144 с.

77. Сариев Б.С. Генофонд ячменя и его использование в практической селекции // Агромеридиан. – 2006. – № 2(3). – Ч.1. – С. 99-104.

78. Потоцкая И.В., Шаманин В.П., Шепелев С.С., Чурсин А.С., Кузьмин О.Г., Моргунов А.И. Поиск генетических источников для улучшения качества зерна сортов пшеницы // Вестник Омского ГАУ. – 2021. – № 1 (41). – С. 45-53.

79. Тажибаева Т.Л., Абугалиева А.И. Распознавание устойчивых к изменениям внешней среды и высококачественных генотипов ячменя // Журнал «Исследования, результаты» (Ізденістер, нәтижелер»). – 2010. – № 6. – С. 191-197.

80. Nevo E. Genome evolution of wild cereal diversity and prospects for crop improvement // Plant Genet. Resour.: Charact. And Util. – 2006. – V. 4. – № 1. – P. 36-40.

81. Pshenichnikova T.A., Simonov A.V., Ermakova M.F., Chistyakova A.K., Shchukina L.V., Morozova E.V. The effects on grain endosperm structure of an introgression from *Aegilops speltoides* Tauch. into chromosome 5A of bread wheat // Euphytica. – 2010. – V. 175. – P. 315-322.

82. Volis S., Mendlinger S., Turuspekov Ye., Ernazarov U., Abugalieva S., Orlovsky N. Allozyme variation in Turkmenian populations of wild barley *Hordeum spontaneum* Koch // Annals of Botany. – 2001. – V. 87. – P. 435-446.

83. Kozhahmetov K.K., Abugalieva A.I. Using gene fund of wild relatives for common wheat improvement // International Journal of Biology and Chemistry. – 2014. – V. 7. – № 2. – P. 41-43.

84. Yasir Serag Alnor Mohammed, Izzat Sidahmed Ali Tahir, Nasrein Mohamed Kamal, Amin Elsadig Eltayeb, Abdelbagi Mukhtar Ali, Hisashi Tsujimoto. Impact of wheat-Leymus racemosus added chromosomes on wheat adaptation and tolerance to heat stress // Breeding Science. – 2014. – V. 63. – P. 450-460. DOI:10.1270/jsbbs.63.450.

85. Caiyun Liu A, Zhiyuan Yang A, Xiaojie Chen A, Hisashi Tsujimoto C, Yin-Gang Hu. A Phenotypic effect of additional chromosomes on agronomic and photosynthetic traits of common wheat in the background of *Chinese Spring* // Crop & Pasture Science. – 2015. – V. 66. – Issue1. – P. 32-41. DOI: 10.1071/CP14024.

86. Отбор доноров адаптивности среди сортов и коллекционных образцов озимой пшеницы для ресурсосберегающих технологий и получения экологически безвредной продукции / Э.А. Барашкова, А.И. Грабовец, М.И. Рыбакова, Ю.П. Федулов и др. Отв. ред. В.И. Драгавцев. – СПб.: ВИР, 1998. – 27 с.

87. Тажибаева Т.Л. Общая адаптационная способность – ключевая проблема экологической биотехнологии сельскохозяйственных растений // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2011. – № 2(48). – Ч. 2. – С.171-175.

88. Иевиньш Г.В. Пероксидазы растений: строение, свойства биохимический полифункционализм // Известия АН Латвийской ССР. – 1987. – № 7. – С. 90-97.

89. Угарова Н.Н., Лебедева О.В. Структура и функции пероксидазы из хрена // Биохимия. – 1978. – Т. 43. – Вып. 10. – С. 1731-1742.

90. Газарян Г. Особенности структуры и механизма действия пероксидаз растений // Биоорганическая химия. – 2006. – Т. 32. – № 1. – С. 80-86.

91. Cosio C., Dunand C. Specific functions of individual class III peroxidase genes // Journal of Experimental Botany. – 2009. – V. 60. – P. 391-408.

92. Passardi F., Theiler Gr., Zamocky M., Cosi C., Rouhier N., Teixera F., Margis–Pinheiro M. Ioannidis V., Penel C., Falquet L., Dunand C. PeroxiBase: The peroxidase database // Phytochemistry. – 2007. – V. 168. – Issue 12. – P. 1605-1611.

93. Van Huystee R.B. Some molecular aspects of plant peroxidase biosynthetic studies // Annual Review of Plant Physiology (Calif.). – 1987. – V. 38. – P. 205-219.

94. Садвакасова Г.Г., Кунаева Р.М. Некоторые физико-химические и физиологические свойства пероксидазы растений // Физиология и биохимия культурных растений. – 1987. – Т. 19. – № 2. – С. 107-119.

95. Tugbaeva A.S., Ermoshin A.A., Kiseleva I.S. Prediction of some peroxidase functions in Arabidopsis thaliana L. by bioinformatic search // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2019. – Т. 23(5). – С. 615-623. DOI 10.18699/VJ19.533.

96. Игнатенко А.А ., Репкина Н.С., Таланова В.В. Участие каталазы и пероксидазы в повышении устойчивости пшеницы к низкой температуре // Труды Карельского научного центра РАН. – 2018. – № 4. – С. 74-83. DOI: 10.17076/them804.

97. Rashmi Awasthi, Kalpna Bhandari, Harsh Nayyar.Temperature stress and redox homeostasis in agricultural crops // Frontiers in Environmental Science. – 2015. – V. 3. – 011. https://doi.org/10.3389/fenvs.2015.00011.

98. Саитжанов Ш.А. Азимов А.А. Зияев З.М. Активность фермента пероксидазы в сортообразцах маша (Vigna radiata l.) в разных условиях водообеспеченности // Science and Innovation. International Scientific Journal. – 2022. – V. 1. – Issue 8. – P. 2181-3337.

99. Еремченко О.З., Арисова А.К., Кайгородов Р.В. Изменения пероксидазной активности и содержания органических кислот в листьях пшеницы в условиях солешелочного стресса // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2022. – № 4. – С. 3-12. DOI:10.21685/2307-9150-2022-4-1.

100. Halusˇkova L., Valentovicˇova K., Huttova J., Mistrik I., Tamas L. Effect of abiotic stresses on glutathione peroxidase and glutathione S-transferase activity in barley root tips // Plant Physiology and Biochemistry. – 2009. – V. 47. – P. 1069-1074.

101. Ибрагимова З.Ш., Меджидова Г.С., Гасанова Г.И., Абдуллаева Л.С., Алиев Р.Т. Взаимодействие компонентов антиоксидантной системы у злаковых культур при засухе // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2020. – № 9 – С. 7-11.

102. Патент № 8174, Республика Казахстан, МПК A01H 1/04. Способ определения устойчивости генотипов пшеницы к стрессовым факторам / Перуанский Ю.В., Абугалиева А.И., Тажибаева Т.Л., 1999.

103. Мисюкевич А.Ю., Гапеева Т.А., Третьякова Т.Г., Семанюк Т.В., Волотовский И.Д. Активация гена пероксидазы в клетках растений картофеля, экспрессирующих ген антимикробного пептида M*sr*A1 // Доклады Национальной академии наук Беларуси. – 2020. – Т. 64. – № 3. – С. 325-331. https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-3-325-331.

104. Sharma P., Jha A.B., Dubey R.S., Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions // Journal of Botany. – 2012. – Article ID 217037. – P. 1-26. DOI: 10.1155/2012/217037.

105. Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В., Кабашникова Л. Ф. Антиоксидантная система растений: клеточная компартментация, защитные и сигнальные функции, механизмы регуляции (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. – 2019. – Т. 55. – № 5. – С. 419-440. DOI:10.1134/S0555109919050088.

106. Yoshida K., Kaothien P., Matsui T., Kawaoka A., Shinmyo A. Molecular biology and application of plant peroxidase genes // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2003. – V. 60(6). – P. 665-700. DOI: 10.1007/s00253-002-1157-7.

107. Андреев В.П., Соболев П.С., Попова Г.Н. Новые типы субстратов пероксидаз // Принципы экологии. – 2017. – № 3. – С. 54-65. DOI: 10.15393/j1.art.2017.4001.

108. Gaspar T.H., Thorpe T., Grephin H. Peroxidases 1970-1980. – Geneve, 1982. – 324 pp.

109. Кабжанова С.Б., Перуанский Ю.В. Состав и активность изопероксидаз и эстераз зерна гетерозисных гибридов кукурузы // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана. – 1975. – № 9. – С. 33-37.

110. Sasaki S., Nonaka D., Wariishi H., Tsutsumi Y., Kondo R. Takeda H., Kotake T., Nakagawa N., Sakurai N., Nevins D.J. Expression and function of cell wall-bound cationic peroxidase in asparagus somatic embryogenesis // Plant Physiology. – 2003. – V. 131. – P. 1765-1774.

111. Михайлова М.П. Роль пероксидазы в повышении устойчивости растений сои к неблагоприятным факторам // Вестник ДВО РАН. – 2019. – № 3. – С. 139-144. DOI: 10.25808/08697698.2019.205.3.024.

112. Кривобочек В.Г., Стаценко А.П., Горешник И.Д., Капустин Д.А., Юрова Ю.А. Использование изменчивости пероксидазы в оценке засухоустойчивости яровой пшеницы // Инновационные техники и технологии. – 2015. – № 4. – С. 34-40.

113. Nourredine Y., Naima A., Dalila H., Habib S., Karim S. and Zohra F.-L. F. Changes of peroxidase activities under cold stress in annuals populations of Medicago // Molecular Plant Breeding. – 2015. – V. 6. – № 5. – P. 1-9. DOI: 10.5376/mpb.2015.06.0005.

114. Мишко А.Е., Луцкий Е.О. Динамика активности пероксидазы и ее изоформ в листьях разных сортов яблони // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2021. – Т. 182 (3). – С. 37-43. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-3-37-43.

115. Bosch A., Figueiras A., Gonzalez-Jaen M.T. and Benito C. Leaf peroxidases - A biochemical marker for the group 2 chromosomes in the *Tricinae* // Genetics Research. – 1986. – V. 47. – № 2. – P. 103-107.

116. Алексеев В.Г., Кершенгольц Б.М., Попов А.А. О характере изменений свойств пероксидазы при адаптации растений (пшеницы) к экстремальным условиям Севера // Физиология растений. – 1983. – Т. 30. – Вып. 6. – С. 1094-1101.

117. Cansev A., Gulen H., Eris A. The activities of catalase and peroxidase in olive (*Olea europaca* L.cv. Gemlik) under low temperature stress // Horticulture, Environment and Biotechnology. – 2011. – V. 52. – № 2. – P. 113-120.

118. Сазонов Н.Н. Влияние заморозков на активность оксидаз в листьях ячменя // Устойчивость к неблагоприятным факторам среды и продуктивность растений. Тезисы докладов. – Иркутск, 2014. – С. 44.

119. Тажибаева Т.Л. Пероксидаза листьев озимой пшеницы в связи с ее морозостойкостью. Автореф. дис. … канд. биол. наук. – Ташкент, 1989. – 20 с.

120. Huang H., Ullah F., Zhou D.-X., Yi M. and Zhao Y. Mechanisms of ROS Regulation of Plant Development and Stress Responses // Frontiers in Plant Science. – 2019. – V. 10. – 800. DOI: 10.3389/fpls.2019.00800.

121. Ignatenko A., Talanova V., Repkina N., Titov A. Exogenous salicylic acid treatment induces cold tolerance in wheat through promotion of antioxidant enzyme

activity and proline accumulation // Acta Physiologiae Plantarum. – 2019. – V. 41(6). – 80. DOI: 10.1007/s11738-019-2872-3.

122. Veena Devi, Amanpreet Kaur, Mehak Sethi and Gosangi Avinash. Effect of Low-Temperature Stress on Plant Performance and Adaptation to Temperature Change / In Book: Plant Abiotic Stress Responses and Tolerance Mechanisms. Editors S. Hussain et al., 2023. – 158 p. DOI:10.5772/intechopen.102138, ISBN978-1-80356-957-4.

123. Колесников А.В., Войников В.К. Белки низкотемпературного стресса растений / отв. ред. В.К. Войников. СО РАН.СИФИБР. – Иркутск: Арт-Пресс, 2003. – 196 с.

124. Савич И.М., Тажибаева Т.Л., Перуанский Ю.В. Удельная активность изопероксидаз проростков кукурузы и пшеницы в условиях температурного стресса // Физиология и биохимия культурных растений. – 1988. – Т. 20. – № 2. – С. 128-133.

125. Sasaki S., Nonaka D., Wariishi H., Tsutsumi Y., Kondo R. Role of Tyr residues on the protein surface of cationic cell-wall-peroxidase (CWPO-C) from poplar: potential oxidation sites for oxidative polymerization of lignin // Phytochemistry. – 2008. – V. 69. – P. 348-355.

126. Liu E.H. A simple method for determining the relative activities of individual peroxidase isozymes in a tissue extracts // Analytical Biochemistry. – 1973. – V. 56. – № 1. – P. 149-154.

127. Патент № 8194, Республика Казахстан, МПК C12N 9/42, G01N33/48. Способ определения активности изопероксидаз / Перуанский Ю.В., Савич И.М., Тажибаева Т.Л., 1999.

128. Merril C.R., Goldman O.E. Ultrasensitive stain for proteins in polyacrylamide gels shows regional variation in cerebrospinal fluid proteins // Science. – 1981. – V. 211. – № 4489. – P. 1437-1438.

129. Сарсенбаев К.Н., Полимбетова Ф.А. Роль ферментов в устойчивости растений. – Алма-Ата: Наука, 1986. – 184 с.

130. Нурпеисов И.А. Селекционное и генетическое изучение морозостойкости у озимой пшеницы: Автореф. дис. … канд. с.-х. наук. – Алмалыбак, 1982. – 19 с.

131. Гончаров Н.П. К вопросу создания каталога хромосомной локализации генов у отечественных сортов мягкой пшеницы // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 1985. – № 3. – С. 21-29.

132. Мухордова М.Е. Изменчивость и генетический контроль зимостойкости у растений мягкой озимой пшеницы // Вестник НГАУ. – 2019. – №2. – С. 35-41. https://doi.org/10.31677/2072-6724-2019-51-2-35-41.

133. Тажибаева Т.Л. Влияние низкотемпературного стресса на аминокислотный состав изопероксидаз пшеницы // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2014. – № 2/1(60). – С. 410-413.

134. Bigelow C.C. The average water repellency (hydrophobicity) of proteins and the relation between it and protein structure // Journal of Theoretical Biology. – 1967. – V. 16. – № 2. – P.187-211.

135. Lawson E.Q., Sadler A.J., Harmatz D.E. A simple experimental model for hydrophobic interactions in proteins // Journal of Biological Chemistry. – 1984. – V. 259. – № 5. – P. 2910-2912.

136. Дюран Б., Оделл П. Кластерный анализ. – М.: Статистика, 1977. – 128 с.

137. Тажибаева Т.Л. Действие низкотемпературного стресса на изопероксидазы пшеницы, различающиеся по изоэлектрическим точкам // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2012. – № 4(56). – С. 336-340.

138. Varga B., Janda T., Laszlo E., Veisz O. Influence of abiotic stresses on the antioxidant enzyme activity of cereals // Acta Physiologiae Plantarum. – 2007. – V. 29. – P. 105-129.

139. Курбидаева А.С., Новокрещенова М.Г. Генетический контроль устойчивости растений к холоду // Генетика. – 2011. – Т. 47. – № 6. – С. 646-661.

140. Мусич В.Н., Корнелли Б. Влияние закаливания на выход ионов калия из клеток растений, различных по морозостойкости сортов озимой пшеницы / Повышение устойчивости растений к низким температурам: Тезисы докладов регионального совещания. – Киев, 1982. – С.82-83.

141. А. С. 835382 СССР. МПК А01 Н1/04 Способ оценки морозостойкости озимой пшеницы / Ю.В. Перуанский, А.П. Стаценко, 1981.

142. Патент №38732, Украина, МПК А 01Н 1/04, А01G 7/00. Способ оценки и отбора морозостойких форм озимых зерновых культур / Хоменко Л.А., 2009.

143. Патент № 2370942, Россия, МПК А01G 7/00. Способ определения морозостойкости озимых зерновых культур / Размахнин Е.П., Размахнина Т. М., Чекуров В.М., Котлов В.Е., 2009.

144. Европейский Патент № 2145960, МПК А 01 Н 5/00(10); С07К 14/195. Последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие белки, связанные с ответом на абиотический стресс, и растения с увеличенной толерантностью к стрессовым факторам среды / Agnes A., Puzio P., Mckersie B., 2010.

145. Тажибаева Т.Л. Рекомендации по применению нового прижизненного метода оценки морозостойкости пшеницы в селекционной практике. – Алматы: КПР МСХ РК, 1995. – 18 с.

146. Патент № 8175, Республика Казахстан, МПК А 01Н 1/04. Способ распознавания озимых и яровых форм пшениц / Перуанский Ю.В., Тажибаева Т.Л., 1999.

147. Бритиков Е.А. Биологическая роль пролина. – М.: Наука, 1975. – 88 с.

148. Raza A., Charagh S., Abbas S., Hassan M.U., Saeed F., Haider S., Sharif R., Anand A., Corpas F.J., Jin W., Varshney R.K. Assessment of proline function in higher plants under extreme temperatures // Plant Biol (Stuttg.). – 2023. – V. 25(3). – P. 379-395. DOI: 10.1111/plb.13510.

149. Перуанский Ю.В., Булатова К.М. Казахстанская научная школа по биохимическому обеспечению селекционных и семеноводческих исследований / В сб. научн. тр. НПЦЗР «Научно-производственному центру земледелия и растениеводства (КазНИИЗ) -70 лет». – Алматы: Изд-во «Нурлы Алем», 2004. – С. 90-105.

150. Fichman Y., Gerdes S.Y., Kovács H., Szabados L., Zilberstein A., Csonka L.N. Evolution of proline biosynthesis: enzymology, bioinformatics, genetics, and transcriptional regulation // Biological Reviews. – 2015. – V. 90. – P. 1065-1099.

151. Rossi S., Chapman C., Huang B. Suppression of heat-induced leaf senescence by c-aminobutyric acid, proline, and ammonium nitrate through regulation of chlorophyll degradation in creeping bent grass // Environmental and Experimental Botany. – 2020. – V. 177. – 104116. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2020.104116.

152. Spormann S., Nadais P., Sousa F., Pinto M., Martins M., Sousa B., Fidalgo F., Soares C. Accumulation of Proline in Plants under Contaminated Soils—Are We on the Same Page? // Antioxidants. – 2023. – V. 12. – 666. https://doi.org/10.3390/ antiox1203066.

153. Meena M., Divyanshu K., Kumar S., Swapnil P., Zehra A., Shukla V., Yadav M., Upadhyay R. Regulation of L-proline biosynthesis, signal transduction, transport, accumulation and its vital role in plants during variable environmental conditions // Heliyon. – 2019. – № 5(12). DOI: 10.1016/j.heliyon. 2019.e02952.

154. Радюкина Н.Л., Шашукова А.В., Шевякова Н.И., Кузнецов Вл.В. Участие пролина в системе антиоксидантной защиты у шалфея при действии NaCl и параквата // Физиология растений. – 2008. – Т. 55. – № 5. – С. 721-730.

155. Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant and Soil. – 1973. – V. 39. – P. 205-207.

156. Furlan A.L., Bianucci E., Giordano W., Castro S., Becker D.F. Proline metabolic dynamics and implications in drought tolerance of peanut plants // Plant Physiology and Biochemistry. – 2020. – V. 151. – P. 566–578. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.04.010.

157. Karalija E., Selović A. The Effect of Hydro and Proline Seed Priming on Growth, Proline and Sugar Content, and Antioxidant Activity of Maize under Cadmium Stress // Environmental Science and Pollution Research. – 2018. – V. 25(6). – P. 33370-33380.

158. Айтлесов К.К., Аубакирова К.М., Аликулов З.А. Снижение ингибирования ферментов тяжелыми металлами *in vitro* с помощью пролина // Experimental Biology. – 2022. – №4 (93). – С. 74-80. https://doi.org/10.26577/eb.2022.v93.i4.07.

159. Anket Sharma, Babar Shahzad, Vinod Kumar, Sukhmeen Kaur Kohli, Gagan Preet Singh Sidhu,, Aditi Shreeya Bali, Neha Handa, Dhriti Kapoor, Renu Bhardwaj, Bingsong Zheng. Phytohormones Regulate Accumulation of Osmolytes Under Abiotic Stress // Biomolecules. – 2019. – V. 9(7). – 285. DOI:10.3390/biom9070285.

160. Ghosh U.K., Islam M.N., Siddiqui M.N., Khan M.A.R. Understanding the roles of osmolytes for acclimatizing plants to changing environment: a review of potential mechanism // Plant Signaling & Behavior. – 2021. – V. 16. – 1913306.

161. Iqbal N., Fatma M., Khan N.A., Umar S. Regulatory role of proline in heat stress tolerance: Modulation by salicylic acid / In: Khan M.I.R., Reddy P.S., Ferrante A. and Khan N.A. (Eds.) Plant Signaling Molecules. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, 2019. – P. 437-448.

162. Hanif S., Saleem M.F., Sarwar M., Irshad M., Shakoor A., Wahid M.A., Khan H.Z. Biochemically triggered heat and drought stress tolerance in rice by proline application // Journal of Plant Growth Regulation. – 2021. – V. 40. – P. 305-312.

163. Park S.-I., Kwon H.J., Cho M.H., Song J.S., Kim B.-G., Baek J., Kim S.L., Ji H., Kwon T.-R., Kim K.-H. The OsERF115/AP2EREBP110 transcription factor is involved in the multiple stress tolerance to heat and drought in rice plants // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – V. 22. – 7181.

164. Qasim Ali, Farooq Anwar, Muhammad Ashraf, Nazamid Saari and Rashida Perveen. Ameliorating Effects of Exogenously Applied Proline on Seed Composition, Seed Oil Quality and Oil Antioxidant Activity of Maize (*Zea mays L.*) under Drought

Stress // International Journal of Molecular Sciences. – 2013. – V. 14. – P. 818-835. DOI:10.3390/ijms14010818.

165. Memoona Khalid, Hafiz Mamoon Rehman, Nisar Ahmed, Sehar Nawaz, Fozia Saleem, Shakeel Ahmad, Muhammad Uzair, Iqrar Ahmad Rana, Rana Muhammad Atif, Qamar U Zaman, Hon-Ming Lam. Using Exogenous Melatonin, Glutathione, Proline, and Glycine Betaine Treatments to Combat Abiotic Stresses in Crops // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – V. 23(21). – 12913. DOI: 10.3390/ijms232112913.

166. Heuer B. Role of proline in plant response to drought and salinity / In: Pessarakli M. (Ed). – Handbook of plant and crop stress. – CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2016. – P. 213-238.

167. Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. Proline mechanisms of stress survival //Antioxidants and Redox Signaling. – 2013. – V. 19. – P. 998-1011.

168. Тажибаева Т.Л. Пролин и стресс-устойчивость зерновых культур // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2006. – № 3(29). – С. 256-260.

169. Кенес Ю., Онсел И. Рост и содержание ряда растворимых метаболитиков у двух видов пшеницы, подвергнутых совместному действию нескольких стрессовых факторов // Физиология растений. – 2004. – Т. 5. – № 2. – С. 228-235.

170. Bulatova K.M. Free Proline Content in Barley Seeds – Predictive Index of Early Maturity // Proceedings of 8th International Barley Symposium, 2000. – P. 211.

171. Abugalieva A., Tazhibayeva T., Savin T. Ecological resistance of wheat facultative and the introgressive forms/ 18th International Scientific Geoconference-SGEM2018. – Conference Proceedings. – V. 18. – Issue 5.1. – Ecology and Environmental Protection. – P. 305-312. DOI:10.5593/sgem2018/5.1/S20.040.

172. Моисеева Е.А., Гончаров Н.П. Генетический контроль ярового типа развития стародавних и местных сортов мягкой пшеницы Сибири // Генетика. – 2007. – Т. 43. – № 4. – С. 469-476.

173. Стельмах А.Ф. Анализ частот аллелей и генотипов по локусам Vrn1-3 у яровой мягкой пшеницы // Генетика. – 1986. – Т. 22. – № 10. – С. 2459-2467.

174. Подольный В.З., Агамалова С.Р., Кокшарова Т.А., Чайлахян М.Х. Влияние яровизации и фотопериода на рост молодых листьев растений мягкой пшеницы, различающихся по одному гену системы Vrn и Ppd // Физиология растений. – 1990. – Т. 37. – № 2. – С. 213-219.

175. Яворская В.К., Драговоз И.В., Маркова В.Е., Феденко Е.П. Взаимодействие цитокининов с системой циклического АМФ (3,5-АМФ) в процессах низкотемпературной адаптации растительных клеток // Доклады РАН. – 1991. – Т. 321. – № 4. – С. 859-868.

176. Турашева С.К., Тажибаева Т.Л., Жумабаева Б.А., Оразова С.Б., Богданова Е.Д. Физиолого-биохимический анализ засухо- и солеустойчивых линий мягкой пшеницы // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2010. – № 2(44). – С. 56-60.

177. Кафи М., Стюарт В.С., Борланд А.М. Содержание углеводов и пролина в листьях, корнях и апексах сортов пшеницы, устойчивых и чувствительных к засолению // Физиология растений. – 2003. – Т. 50. – № 2. – С. 174-182.

178. Ильин В.Б., Гармаш Г.А., Гармаш Н.Ю. Влияние тяжелых металлов на рост, развитие и урожайность сельскохозяйственных культур // Агрохимия. – 1985. – № 6. – С. 90-100.

179. Патент № 2007071, Россия, МПК А01 G 7/00. Способ определения устойчивости сортов пшеницы к тяжелым металлам / Гамзикова О.И., Барсукова В.С., 1994.

180. Тажибаева Т.Л., Абугалиева А.И., Масимгазиева А.С. Ростовая реакция интрогрессивных форм пшеницы на действие тяжелых металлов // Вестник КазНУ. Серия экологическая. – 2015. – № 21(44). – С. 219-224.

181. Инновационный патент № 25999, Республика Казахстан, МПК А01Н 1/04. Способ оценки солеустойчивости мягкой пшеницы / Рысбекова А.Б., Айташева З.Г., Мамонов Л.К., Полимбетова Ф.А., 2012.

182. Патент на полезную модель № 3044, Республика Казахстан, МПК А01G 7/00; А01Н 1/04. Способ распознавания генотипов пшеницы по устойчивости к тяжелым металлам / Тажибаева Т.Л., Абугалиева А.И., Масимгазиева А.С., 2018.

183. Тажибаева Т.Л. Роль пролина в обеспечении общей адаптационнолй способности озимых зерновых культур. Материалы V междунар. конференции «Проблемы экологии АПК и охраны окру-жающей среды». – Кызылорда. Алматы: Изд-во «Алейрон», 2008. – С. 209-210.

184. Peterson P.J. Plant adaptation to environmental stress: metal pollutant tolerance / In book: Plant adaptation to environmental stress. Edited by Fowden L. et al. – London – Glasgow – NY – Tokyo – Melbourne – Madras: Chapman & Hall, 1993. – P. 171-188.

185. Гусев Н.А., Гордон Л.Х. О некоторых возможных причинах накопления в растениях пролина при засухе / В сб.: Физиология водообмена и засухоустойчивости растений. – Казань: Издательство Казанского университета,1968. – С. 47-53.

186. Li Liang, Yu Guang-hui, Zeng Fu-hua. Huanan shifan daxue xuebao. Zirankexue ban (Molecular mechanism of plants proline accumulation in water-stress) // J. S. China Norm. Univ.Natur.Sci. – 2003. – № 1. – P. 126-134.

187. Жученко А.А. Адаптивное растениеводство (эколого-генетические аспекты): теория и практика. – М.: Агрорус, 2008. – Т. 1. – 814 с.

188. Абугалиева А.И., Туруспеков Е.К., Есимбекова М.А., Абугалиева С.И., Тажибаева Т.Л. Определение общей адаптационной способности дикого и культурного ячменя // Вестник с-х науки Казахстана. – 2002. – № 10. – С. 9-13.

189. Прянишников А.И., Савченко И.В., Мазуров В.Н., Адаптивная селекция: теория и практика отбора на продуктивность // Вестник российской сельскохозяйственной науки. – 2018. – № 3. – С. 29-32.

190. Абугалиева А.И., Туруспеков Е.К., Абугалиева С.И. Создание гибридов между *H.vulgare* и *H.spontaneum* в поиске толерантных и ценных генотипов озимого ячменя // Вестник с-х науки Казахстана. – 2008. – № 10. – С. 5-12.

191. Turuspekov Y., Abugalieva A., Abugalieva S., Korol A. Analysis of cultivated and wild barley for common adaptation ability in conditions of Kazakhstan // Материалы международной научной конференции «Современное состояние проблем и достижений в области генетики селекции». – Алматы, 2003. – С. 70.

192. Моцный И.И., Симоненко В.К. Использование пшенично-чужеродных амфидиплоидов для интрогрессии в геном пшеницы // Цитология и генетика. – 1995. – Т. 29. – № 6. – С. 35-40.

193. Тажибаева Т.Л., Абугалиева А.И., Кожахметов К.К., Полякова С.Е. Засухоустойчивость диких, культурных и интрогрессивных форм озимой пшеницы // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2016. – № 2(67). – С. 50-61.

194. Verhulst N., Govaerts B. The normalized difference vegetation index (NDVI) GreenSeeker TM handheld sensor: Toward the integrated evaluation of crop management. Part A.: Concepts and case studies. – Mexico: CIMMYT, 2010. – P. 37-39.

195. Масимгазиева А.С., Абугалиева А.И., Кожахметов К. Устойчивость интрогрессивных форм пшеницы к абиотическим факторам (NDVI-тезиологии) // Сборник материалов Научной конференции и школы для молодых ученых «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты», 18-24 сентября 2017 г., Крым, Судак. – Москва, 2017. – С. 224.

196. Даваян Р.О., Бебякина И.В., Даваян Э.Р., Кекало Н.Ю. Использование генофонды диких сородичей для улучшения мягкой пшеницы. Отдаленная гибридизация. Современное состояние и перспективы // Международная конференция по отдаленной гибридизации. 16-17 декабря 2003. – М., 2003. – С. 82-83.

197. Семыкин В.А., Пигорев И.Я. Фотосинтетический потенциал озимой пшеницы в условиях черноземья России // Фундаментальные исследования. – 2007. – № 2. – С. 42-47.

198. Прядкина Г. А., Стасик О. О., Михальская Л. Н. Швартау В. В. Связь между величиной хлорофиллного фотосинтетического потенциала и урожайностью озимой пшеницы (*Ttriticum aestivum L.*) при повышенных температурах // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – № 5.– С. 88-95.

199. Полякова И.А., Тажибаева Т.Л., Абугалиева А.И. Дифференциация интрогрессивных форм пшеницы по содержанию хлорофилла для повышения эффективности использования зерновых культур // Сборник VI Международного молодежного форума «Зеленый мост через поколения». 11- 12 апрель 2017 г. – Алматы: Қазақ университеті, 2017. – С. 102-105.

200. Мамадюсуфова М.Г. Особенности биохимических показателей у пшеницы и её диких сородичей, произрастающих в разных зонах Таджикистана. Автореф. дис. … канд. биол. наук. – Душанбе: ТНУ, 2014. – 21 с.

201. Креславский В.Д., Кособрюхова А.А., Шмарев А.Н. Аксенова Н.П., Константинова Т.Н., Голяновская С.А., Романов Г.А. Введение гена PHYB арабидопсиса повышает устойчивость фотосинтетического аппарата трансгенных растений Solanus tuberosum к УФ-облучению // Физиология растений. – 2015. – Т. 62. – № 2. – С. 167-175. DOI: 10.7868/S0015330315020116.

202. Hiroyuki Tanaka, Hisashi Tsujimoto. Positive or negative effects on drought strength in large-scale group-1 chromosome deletion lines of common wheat (Triticum aestivum) // Euphytica. – 2012. – № 186. – P. 57-65. DOI: 10.1007/s10681-011-0489-8.

203. Маймистров В.В. Физиологические основы селекции озимой пшеницы на засухоустойчивость. Автореф. дис. …д-ра биол. наук. – Краснодар, 2000. – 42 с.

204. Фоменко М.А., Грабовец А.И., Беседина О.В. Основные принципы селекции озимой пшеницы на засухоустойчивость на Дону // Известия Оренбургского ГАУ. – 2013.– № 4(42). – С. 52-55.

205. Francis C. Ogbonnaya and Osman Abdalla, Abdul Mujeeb-Kazi, Alvina G. Kazi, Steven S. Xu, Nick Gosman, Evans S. Lagudah, David Bonnett, Mark E. Sorrells, Hisashi Tsujimoto. Synthetic Hexaploids: Harnessing Species of the Primary Gene Pool for Wheat Improvement // Plant Breeding Reviews. – 2013. – V. 37. – P. 232-267.

206. Чикалова В.А., Даскалюк А.П. Ростовая реакция корней на действие теплового шока как показатель теплоустойчивости гексаплоидной пшеницы // Физиология и биохимия культурных растений. – 2013. – Т. 45. – № 1. – С. 70-76.

207. Ткачев В.И., Гуляев Б.И. Реакция растений разных сортов озимой пшеницы на кратковременную почвенную засуху // Физиология и биохимия культ. растений. – 2010. – Т. 42. – № 6. – С. 522-529.

208. Abu Hena M. Kamal, Kim Ki-Hyun, Shin Kwang-Hyun, Choi Jong-Soon, Baik Byung-Kee, Tsujimoto H., Heo Hwa Young, Park Chul–Soo, Woo Sun–Hee. Abiotic stress responsive proteins of wheat grain determined using proteomics technique // Australian Journal of Crop Science. – 2010. – № 4(3). – P. 196-208.

209. Туманов И.И. Физиология закаливания и морозостойкости растений. – М.: Наука, 1979. – 349 с.

210. Огарь Н. П., Леонова Ю. М. Аккумуляция тяжелых металлов растительностью и почвой в зоне влияния предприятий восточной промышленной зоны г. Павлодара // Вестник КазНУ. Серия биологическая. –2009. – №41(2). –С.20-25.

211. Сарқулова Ж.С., Козыбаева Ф.Е.Содержание тяжелых металлов в растениях, произрастающих на территории влияния выбросов Риддерского цинкового завода // Вестник КазНУ. Серия Экологическая. – 2019.- №58(1). – С. 61-73. https://doi.org/10.26577/EJE.2019.v58.i1.06

212. Кветисадзе Г.И., Хатисашвили Г.А., Садунишвили Т.А., Евстигнеева З.Г. Метаболизм антропогенных токсикантов в высших растениях. – М.: Наука, 2005. – 197 с.

213. Панин М.С. Химическая экология. Учебник для ВУЗов / под ред. Кудайбергенова С.Е. – Семипалатинск: СГУ им. Шакарима, 2002. – 852с.

214. Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжелые металлы и растения. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. – 194 с.

215. Уразаев Н.А., Вакулин А.А., Никитин А.В. и др.Сельскохозяйственная экология. –М.: Колос, 2000. – 304 с.

216. Baubekova A., Jurjanz S., Akindykova A. Presence of contaminants in the environment and the food chain over the last 25 years in Kazakhstan // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2018. – № 75(2). – P. 67 - 91. https://doi.org/10.26577/eb-2018-2-1328

217. Отаров А., Вырахманова А.С., Полатова М. Фоновое содержание тяжелых металлов в почвах преддельты реки Сырдарьи // Почвоведение и агрохимия. –2015. – №1. – С.26-32.

218. Рамазанова Н., Токсанбаева С., Ауезова З. Загрязнение тяжелыми металлами северной части бассейна реки Жайык в пределах Западно – Казахстанской области // Вестник КазНУ. Серия географическая. – 2017. – №1 (44). – С.109 -117.

219. Кенжебаева Г.И. Негативное влияние тяжелых металлов в сельском хозяйстве // Почвоведение и агрохимия. – 2016. – №2. – С. 83-97.

220. Технический регламент Таможенного Союза 015/2011 «О безопасности зерна». https://online.zakon.kz/Document/?doc_id=31121631

221. Тажибаева Т.Л. Тяжелые металлы и общая адаптационная способность сельскохозяйственных зерновых культур // Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. – 2011. – № 4. – С. 57-64.

222. Тажибаева Т.Л., Масимгазиева А.С., Абугалиева А.И. Устойчивость к тяжелым металлам в системе показателей агроэкологической безопасности казахстанского зерна // Вестник КазНУ. Серия географическая. – 2012. – № 2(35). – С. 77-85.

223. Тажибаева Т.Л., Масимгазиева А.С., Абугалиева А.И. Физиологические параметры экологической устойчивости пшениц-двуручек / В сб. «VIII международный Беремжановский съезд по химии и химической технологии (секция Экология)». 9-10 октября 2014 года. – Усть-Каменогорск, 2014. – Часть 2. – С. 241-245.

224. Тажибаева Т.Л., Сарсенбаев Б.А., Ермагамбетов А.М., Абугалиева А.И., Головченко О.Ю. Влияние тяжелых металлов на физиологические параметры прорастания ячменя // Вестник КазГУ, серия химическая. – 1999. – № 3(15). – С. 343-346.

225. Кравченко А.Ю. Отдаленная гибридизация и рекомбинация генетического материала в трибе пшеницевых. Задачи селекции и пути их решения в Сибири // Доклады и сообщения генетико-селекционной школы, 19-23 апреля 2000. – Новосибирск, 2000. – С. 98-106.

226. Серегин И.В., Кожевникова А.Д. Роль тканей корня и побега в транспорте и накоплении кадмия, свинца, никеля и стронция // Физиология растений. – 2008. – Т. 55. – № 1. – С. 3-7.

227. Tazhibayeva T., Abugalieva A., Kozhakhmetov K. Resistance of wheat introgressive forms to heavy metals // 17 th International Multidisciplinary Scientific Geoconference SGEM 2017. Ecology and Environmental Protection. 29 June-05 July, 2017. Conference Proceedings. – Albena, Bulgaria, 2017. – V. 17. – Issue 52. – P. 777-784. DOI: 10.5593/sgem2017/52.

228. Rasheed R., Ashraf M.A., Hussain I., Kanwal U., Iqbal M. Exogenous proline and glycine betaine mitigate cadmium stress in two genetically different spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars // Revista Brasileira de Botanica. – 2014. – V. 37(4). – P. 399-406.

229. Абугалиева А.И., Кожахметов К.К., Савин Т.М. Оценка и маркирование диких сородичей пшеницы и их гибридов с коммерческими сортами по содержанию Fe, Zn и составу глютенина // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2012. – № 4(56). – С. 344-350.

Научное издание

Тажибаева Тамара Лашкаровна

УСТОЙЧИВОСТЬ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР К ЭКОЛОГИЧЕСКИМ СТРЕССАМ

Монография

ИБ №15750
Подписано в печать 31.05.2025. Формат 60x84 1/16. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Объем 9,5 п.л. тираж 500 экз. Заказ №522.
Издательский дом «Қазақ университеті»
Казахского национального университета им. аль-Фараби.
050040, г. Алматы, пр. аль-Фараби, 71. КазНУ.

Отпечатано в типографии издательского дома «Қазақ университеті»

ISBN 978-601-04-7058-3