

Инструментальные методы и программно-аппаратные средства при решении проблемы стрессоустойчивости в растениеводстве

Т.А. ГУРОВА*, Г.М. ОСИПОВА

Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Краснообск, Новосибирская область, Россия

*Контактный e-mail: guro-tamara@yandex.ru

Рассмотрены возможности программно-аппаратных средств и инструментальных методов скрининга стрессоустойчивости, которые могут быть использованы в создании различных программ адаптации растениеводства при изменении климата – “взаимодействие генотип – среда”. Определены критерии стрессоустойчивости на разных уровнях биологической организации. Разработан комплекс биофизических методов для оценки стрессоустойчивости сортов ячменя и пшеницы к обыкновенной корневой гнили злаков и хлоридному засолению.

Ключевые слова: инструментальные методы, программно-аппаратные средства, устойчивость к стрессу, мягкая яровая пшеница (*Triticum aestivum* L.), кострец безостый (*Bromopsis inermis* L.).

Введение

Существуют неоспоримые доказательства влияния изменения климата на жизнь: от генов до биосферы. Но до сих пор мало изучена реакция видов на их взаимодействие с такими глобальными факторами, как, например, эвтрофикация (заболачивание), изменение значений N : P отношения, агрессия видов, биохимические и биофизические связи и т. д. [1–3]. Климатические изменения, которые наблюдаются в последние десятилетия, могут угрожать стабильности производства продуктов питания для человека и основных кормов для животных, т. е. продовольственной безопасности страны. К тому же из-за большого разнообразия почвенно-климатических условий России требуется разработка различных программ адаптации сельского хозяйства к изменениям климата [4, 5].

Создание сортов сельскохозяйственных культур, приспособленных к новым условиям среды, занимает довольно длительный период. Так, до включения сорта в Реестр селекционных достижений по сельскохозяйственным культурам проходит 10–20 лет и более. Кроме того, в течение селекционного процесса могут произойти непредсказуемые изменения метеоусловий, что сведет селекционную работу для конкретных почвенно-климатических условий к ее начальному этапу – необходимости создания нового селекционного материала. В связи с этим важной актуальной задачей на современном этапе в условиях постоянного

изменения климата, на наш взгляд, является определение наиболее толерантных (стрессоустойчивых) для конкретных почвенно-климатических условий видов, сортов сельскохозяйственных культур. В данном случае под толерантностью сельскохозяйственных культур понимается способность популяций, сортов, растений переносить неблагоприятное влияние того или иного фактора среды без резкого снижения их урожайности [6].

1. Постановка проблемы

На первом этапе исследований возникает необходимость эффективного поиска и систематизации имеющихся доноров и источников стрессоустойчивости в сочетании с другими хозяйственно ценными признаками и свойствами. Проведение этой работы может быть максимально ускорено при использовании информационных технологий, неотъемлемой частью которых являются базы данных и информационно-измерительные системы. Базы данных могут формироваться на основе как литературных источников, так и непосредственно полученных данных о стрессоустойчивости при разных типах диагностики (полевом, вегетационном, лабораторном). По оценкам Biological Systems Science (Кливленд, США), в растениеводстве более 80 % всего конечного выхода продукции определяется эмерджентными свойствами, возникающими на разных уровнях биологической организации. В сельскохозяйственной практике растениеводства наиболее востребованы популяционный (одновидовые посевы) и биоценотический (поливидовые посевы) уровни биологической организации.

Для признаков, подверженных феномену “взаимодействие генотип–среда”, невозможно получить стабильную паспортную и генетическую характеристику для всех сред. Это не способны сделать ни практически работающие алгоритмы на языке традиционной генетики Г. Менделя, моделей Хеймана, Гриффинга и др., ни язык современной молекулярной генетики. Так, генетическая характеристика хозяйственно важного признака, полученная методами генетического анализа по Менделю или Хейману, которые требуют больших затрат труда и времени, обязательно изменится в следующем году или в новой экологической нише. На фоне разных лимитирующих факторов среды генетические детерминации признака (спектр и число генов) будут различными, донорские качества растений изменятся [7]. Ключевую роль в этом могут играть эпигенетические модификации, обладающие удивительной способностью реагировать на широкий ряд сигналов от внешней среды.

Так как механизмы адаптации при разных видах стрессовых воздействий однотипны и реализуются на различных уровнях биологической организации, для оценки стрессоустойчивости можно выбрать наименее энергозатратные алгоритмы. С этой точки зрения необходимыми могут быть экспрессные методы и критерии точной идентификации физиолого-цитогенетических систем растительных организмов, способных не снижать урожай в стрессовых условиях. В.А. Драгавцев предлагает организацию специального уникального фитотрона, позволяющего в любую фазу онтогенеза воздействовать на растение конкретным лимитирующим фактором среды и тем самым включать в работу для формирования нужного признака семь главных физиолого-генетических систем: аттракцию, микрораспределение продуктов фотосинте-

за, адаптивность, горизонтальную устойчивость, “оплату” лим-факторов почвенного питания, толерантность к загущению и генетическую вариабельность продолжительности фаз онтогенеза [7]. В данном случае можно создать типичный год для любой точки Земли и любой зоны.

В целом среди всех типов диагностики наименее трудоемкими, более производительными и стабильными с четкой моделируемостью являются лабораторные. Полевые опыты растянуты во времени, уровень энергозатрат у них довольно высокий, особенно для сортов интенсивного типа. Кроме того, лабораторный тип диагностики позволяет организовать определенный стрессовый фактор в любую фазу онтогенеза в течение нужного промежутка времени и на его фоне подобрать диагностический признак.

В настоящее время по многим видам растений и сортам сельскохозяйственных культур отсутствует информация о стрессоустойчивости на разных уровнях биологической организации. Получение ее требует использования разнообразных инструментальных методов и методик, системного анализа с последующим формированием баз паспортных и оценочных данных по сортам сельскохозяйственных культур, а также комплексности исследований по различным научным направлениям. Полученные знания могут быть использованы при разработке алгоритмов и программ оптимального размещения видов и сортов сельскохозяйственных культур с учетом особенностей климата, рельефа и почв. Модельная структура комплексных исследований по стрессоустойчивости растительных объектов приведена на рис. 1.

2. Результаты исследований

В СФНЦА РАН проведены исследования по выявлению критерия стрессоустойчивости (толерантности) на цитогенетическом и популяционном уровнях костреца безостого в разнообразных почвенно-климатических зонах Сибири: лесостепи Западной Сибири, тундры Заполярного Ямала, тайги Восточной Сибири и степи Северного Казахстана. Установлено, что на октоплоидном уровне ($2n = 56$) эта культура лучше адаптируется к северным широтам, чем тетраплоидном ($2n = 28$).

На рис. 2 приведена схема распределения по географическим широтам дикорастущих популяций костреца безостого в зависимости от уровня плоидности, которая может быть использована для создания геоинформационной системы (ГИС) в этом направлении.

Многие октоплоидные сорта костреца безостого, несмотря на более высокий уровень нарушений в мейозе, успешно возделываются в экстремальных условиях Сибири и по урожайности кормовой массы превышают другие многолетние злаковые травы [6, 8]. Анализ уровня цитомиксиса в мейозе свидетельствует о нестабильности генома данного вида у селекционного материала и сортов костреца безостого по сравнению с природными популяциями [9]. Можно предположить, что это связано с различием в работе недавно открытых эпигенетических механизмов, что указывает на необходимость всесторонней оценки дикорастущей флоры с привлечением новых инструментальных методов исследования разных типов стрессоустойчивости.



Рис. 1. Модельная структура комплексных исследований по стрессоустойчивости растительных объектов

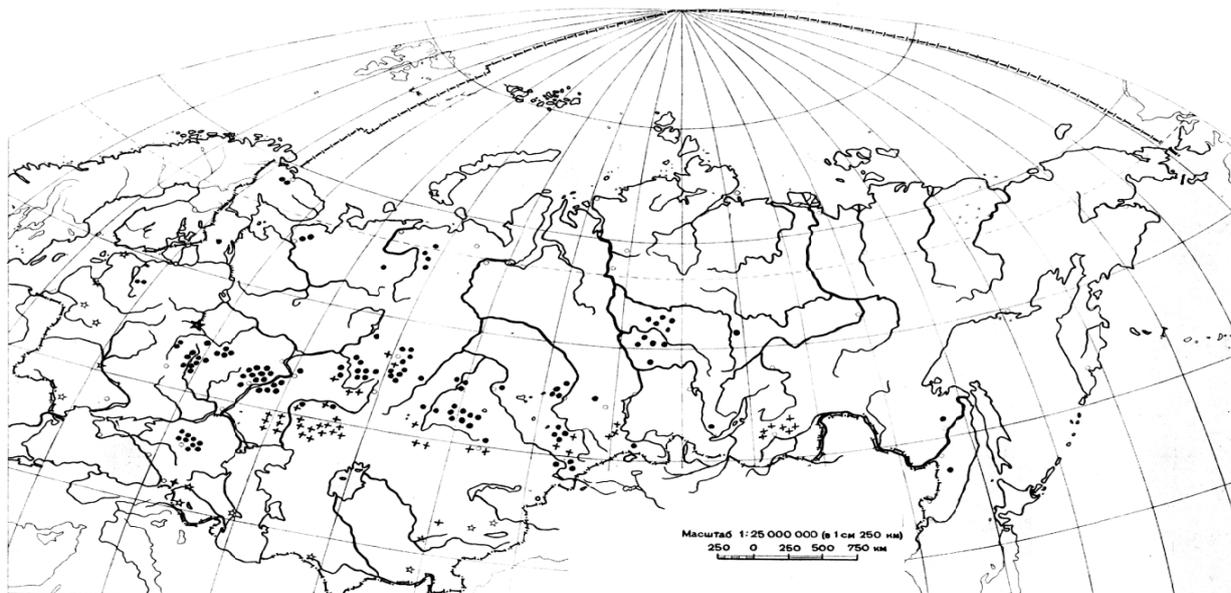


Рис. 2. Схема географического распределения полиплоидных форм костреца безостого на территории бывшего СССР, предназначенная для создания ГИС-технологий:

+ – $2n = 28$; • – $2n = 56$

В СФНЦА РАН проводятся также исследования по разработке инструментальных косвенных методов оценки стрессоустойчивости сортов яровой мягкой пшеницы к обыкновенной корневой гнили – одной из вредоносных болезней зерновых культур и засолению, а также методов определения токсической активности возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков микроскопического гриба *Bipolaris sorokiniana* Schoem. Для проведения исследований создан комплекс программно-аппаратных средств, включающий регистраторы сверхслабого свечения растений и биологических сред серии “ФОТОН”, компьютерный лабораторный кондуктометр для оценки проницаемости клеточных мембран растений, а также виртуальный прибор “ЛИСТОМЕР” – для измерения площади листьев и их пораженной части. Комплекс обеспечивает анализ, диагностику, статистическую обработку, представление в цифровом и графическом виде экспериментальных данных, вычисление количественных характеристик признака устойчивости и формирование баз данных результатов экспериментов [10–12]. Для выращивания экспериментальных растений в контролируемых условиях в институте созданы установки искусственного климата серии “БИОТРОН” [13].

В качестве диагностических авторами предложено использовать такие параметры, как:

- замедленная флуоресценция листовой ткани как интегральный показатель энергетического статуса растений;
- собственное и индуцированное свечение корней, характеризующее уровень свободно-радикальных и окислительных процессов в клетках и тканях;
- проницаемость клеточных мембран, определяющая стабильность клеток и тканей;
- окислительно-восстановительный потенциал и активная кислотность;
- собственное и индуцированное свечение культуральных фильтратов фитопатогена.

В качестве контрольных использовались биометрические показатели: энергия прорастания, всхожесть, линейные размеры, площадь листьев, накопление биомассы, продуктивность, урожайность, развитие и распространенность болезни.

В результате исследований установлены закономерности изменения диагностических параметров в зависимости от устойчивости сортов, при этом реакция относительно устойчивых сортов к разным стрессорам была менее выражена. Эти данные согласуются с результатами других исследований [14–20]. Определены критерии относительной стрессоустойчивости, а также режимы стрессовых воздействий, обеспечивающих наибольшую амплитуду сортовых различий, что повышает дифференцирующую способность методов. Установлена сильная линейная корреляция между ростовыми параметрами, биомассой, элементами структуры урожая, развитием болезни и всеми биофизическими показателями, что позволило разработать комплекс биофизических методов по оценке стрессоустойчивости сортов ячменя и пшеницы к обыкновенной корневой гнили злаков и хлоридному засолению по замедленной флуоресценции листьев, сверхслабому свечению корней и корневых экссудатов растений, электропроводности водных вытяжек листьев, защищенных патентами Российской Федерации [21–23].

Проведена апробация методов на 65 сортах яровой пшеницы и 18 сортах ярового ячменя с ранжированием на кластеры по солеустойчивости и устойчивости к обыкновенной корневой гнили злаков. Анализ результатов оценки сортов пшеницы к засолению и корневой гнили показал, что по дифференцирующей способности биофизические методы находятся на уровне традиционных биометрических методов, а в ряде случаев превосходят их [24, 25]. По результатам исследований фитопатогенов разработаны и защищены авторскими свидетельствами РФ способы оценки наступления максимальной фитотоксичности патогенов и определения сравнительной патогенности изолятов гриба. Разработанные методы и программно-аппаратные средства позволяют проводить комплексные исследования по моделированию взаимодействующей системы растение–хозяин–патоген, оценивать первичные неспецифические реакции и адаптивные компоненты стрессоустойчивости различных сортов сельскохозяйственных культур.

Заключение

Полученные результаты исследований позволяют оптимизировать методы скрининга стрессоустойчивости и могут быть использованы при создании разных программ адаптации растениеводства в условиях изменения климата. Полученные многолетние данные свидетельствуют о сложности проблемы “взаимодействие генотип–среда” и предполагают наличие обширных эпигенетических механизмов, регулирующих экспрессию генов стрессоустойчивости. Это, в свою очередь, требует дальнейших исследований как в теоретическом, так и прикладном плане. Для повышения их эффективности необходимы комплексные исследования с привлечением современных молекулярно-генетических и информационно-аналитических методов с целью формирования информационно-измерительной системы автоматизированного скрининга стрессоустойчивости растений.

Благодарности. Статья опубликована при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-07-20001).

Список литературы / References

- [1] **Penuelas, J., Sardans, J., Estiarte, M., Ogaya, R., Carnicer, J., Coll, M., Barbeta, A., Rivas-Ubach, A., Llusià, J., Garbulsky, M., Filella, I., Jump, A.S.** Evidence of current impact of climate change on life: a walk from genes to the biosphere // *Global Change Biology*. 2013. Vol. 19, No. 8. P. 2303–2338.
- [2] **Frank, D., Reichstein, M., Bahn, M., Frank, D., Mahecha, M.D., Smith, P., Thonicke, K., van der Velde, M., Vicca, S., Babst, F.** Effects of climate extremes on the terrestrial carbon cycle: concepts, processes and potential future impacts // *Global Change Biology*. 2015. Vol. 21, No. 7. P. 2861–2880.
- [3] **Ahuja, I., de Vos, R.C.H., Bones, A.M., Hall, R.D.** Plant molecular stress responses face climate change // *Trends in Plant Science*. 2010. Vol. 15, No. 12. P. 664–674.
- [4] Доклад об особенностях климата на территории Российской Федерации за 2012 год. М.: Росгидромет, 2013. 86 с.
Report on climate features on the territory of Russian Federation in 2012. Moscow: Roshidromet, 2013. 86 p. (In Russ.)
- [5] Стратегический прогноз изменений климата Российской Федерации на период до 2010–2015 гг. и их влияния на отрасли экономики России. М.: Росгидромет, 2005. 28 с.
Strategic forecast of climate changes in Russian Federation for the period until 2010–2015 and its impact on sectors of Russian economy. Moscow: Roshidromet, 2005. 28 p. (In Russ.)
- [6] **Kashevarov, N.I., Osipova, G.M., Tyuryukov, A.G., Filippova, N.I.** Investigation of the characteristics of smooth brome grass (*Bromopsis inermis* Leys) biological traits for cultivation under extreme environmental conditions // *Russian Agricultural Sciences*. 2015. Vol. 41, No. 1. P. 14–17.
- [7] **Драгавцев В.А.** Мега-проект по реформированию традиционных систем селекции растений на продуктивность и урожай. Адрес доступа: // <http://www.agromage.com>. (дата обращения 10.09.2016).
Dragavtsev, V.A. Mega-project on reform for the traditional system of plant selection for plant performance and crop. Available at: // <http://www.agromage.com>. (date of access 10.09.2016). (In Russ.)
- [8] **Кашеваров Н.И., Тюрюков А.Г., Осипова Г.М.** Урожайность костреца безостого в разных природно-климатических зонах Сибири // *Достижения науки и техники АПК*. 2015. Т. 29, № 11. С. 81–83.
Kashevarov, N.I., Tyuryukov, A.G., Osipova, G.M. Productivity of awnless brome under different climatic zones of Siberia // *Achievements of Science and Technology of AIC*. 2015. Vol. 29, No. 11. С. 81–83. (In Russ.)
- [9] **Осипова Г.М.** Цитомиксис в образцах из природных и селекционных популяций костреца безостого // *Сиб. вестн. с.-х. науки*. 2014. № 6. С. 49–54.
Osipova, G.M. Cytomixis in natural and cultivated populations of smooth brome grass // *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2014. No. 6. P. 49–54. (In Russ.)

- [10] Компьютерные информационные системы в агропромышленном комплексе / В.В. Альт, Т.Н. Боброва, Т.А. Гурова, С.Г. Денисюк, Л.А. Колпакова, С.Н. Ольшевский, О.Ф. Савченко. Новосибирск. Россельхозакадемия, Сиб. отд-ние. СибФТИ, 2008. 220 с.
- Computer-based information system in agroindustrial sector / V.V. Alt, T.N. Bobrova, T.A. Gurova, S.G. Denisyuk, L.A. Kolpakova, S.N. Olshevskiy, O.F. Savchenko. Novosibirsk: Rossel'khozakademiya, Sibirskoe otdelenie. SibFTI, 2008. 220 p. (In Russ.)
- [11] **Березина В.Ю., Гурова Т.А.** Автоматизированный комплекс измерительной аппаратуры для оценки устойчивости растений к стрессовым факторам среды // Достижения науки и техники АПК. 2006. № 11. С. 15–17.
- Berezina, V.Yu., Gurova, T.A.** Automated measuring complex for evaluation of plants resistance to environmental stress factors // Achievements of Science and Technology of AIC. 2006, No. 11. P. 15–17. (In Russ.)
- [12] Карта ИКАП ЦИТИС № 50201351147 Программа для ЭВМ “Компьютерный лабораторный кондуктометр КЛК” / С.Г. Денисюк. Оpubл. 03.12.2013.
- Information map of algorithms and programs by the Central Institute of Information and Standardization No. 50201351147 Computer-based program “Computer-based conductometer for laboratory KLK” / S.G. Denisyuk. Published on 03.12.2013. (In Russ.)
- [13] Патент РФ 2546221 МПК А01G 9/24. Шкаф искусственного климата / В.В. Минеев, В.А. Золотарев, В.В. Альт, В.М. Фурзииков, А.С. Тихонов. Бюл. № 10. 10.04.2015.
- Patent RU 2546221 МПК А01G 9/24. Box of artificial climate / V.V. Mineev, V.A. Zolotarev, V.V. Alt, V.M. Furzikov, A.S. Tikhonov. Certificate No. 10. 10.04.2015. (In Russ.)
- [14] **Chen, L., Liu Y., Wu, G., Veronican Njeri, K., Shen, Q., Zhang, N., Zhang, R.** Induced maize salt tolerance by rhizosphere inoculation of *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 // *Physiologia Plantarum*. 2016. Vol. 158, No. 1. P. 34–44.
- [15] **Zegada-Lizarazu, W., Luna, D.F., Monti, A.** Differential characteristics of photochemical acclimating to cold in two contrasting sweet sorghum hybrids // *Physiologia Plantarum*. 2016. Vol. 157, No. 4. P. 479–489.
- [16] **Максимов И.В., Черепанова Е.А.** Про-антиоксидантная система и устойчивость растений к патогенам // *Успехи совр. биологии*. 2006. Т. 126, № 3. С. 250–261.
- Maksimov, I.V., Cherepanova, E.A.** Pro-antioxidant system and resistance of plants to pathogens // *Biology Bulletin Reviews*. 2006. Vol. 126, No. 3. P. 250–261. (In Russ.)
- [17] **Ping, A., Shinobu, I., Yehezkel, C., Uzi, K., Yukihiro, S.** Salt tolerance in two soybean cultivars // *J. of Plant Nutrition and Soil Science*. 2002. Vol. 25, No. 3. P. 407–423.
- [18] **Yang, C.W., Wang, P., Li, C.Y., Shi, D.C., Wang, D.L.** Comparison of effects of salt and alkali stresses on the growth and photosynthesis of wheat // *Photosynthetica*. 2008. Vol. 46, No. 1. P. 107–114.
- [19] **Lootens, P., Van Waes, J., Carlier, L.** Effect of a short photoinhibition stress on photosynthesis, chlorophyll a fluorescence, and pigment content of different maize cultivars. Can a rapid and objective stress indicator be found? // *Photosynthetica*. 2004. Vol. 42, No. 2. P. 187–192.
- [20] **Nyochembeng, L.V., Beyil, C.A., Pacumbaba, R.P.** Peroxidase activity isozyme patterns and electrolyte leakade in roots of cocoyam infected with *Pythium myriotylum* // *J. of Phytopathology*. 2007. Vol. 155, No. 7–8. P. 454–461.

- [21] Патент РФ 2166245 МПК A01G7/00 A01H1/04. Способ определения относительной устойчивости сортов ячменя и пшеницы к обыкновенной корневой гнили злаков / Т.А. Гурова, В.Ю. Березина. Бюл. № 13. 10.05.2001.
Patent RU 2166245 МПК A01G7/00 A01H1/04. Evaluation method for relative resistance of barley and wheat cultivar to common root rot of cereals / Т.А. Gurova, V.Yu. Berezina. Certificate No. 13. 10.05.2001. (In Russ.)
- [22] Патент РФ 2188538 МПК A01G7/00 A01H1/04. Способ определения относительной устойчивости сортов пшеницы к обыкновенной корневой гнили злаков / Т.А. Гурова, В.Ю. Березина. Бюл. № 25. 10.09.2002.
Patent RU 2188538 МПК A01G7/00 A01H1/04. Evaluation method for relative resistance of wheat cultivar to common root rot of cereals / Т.А. Gurova, V.Yu. Berezina. Certificate No. 25. 10.09.2002. (In Russ.)
- [23] Патент РФ 2446671 МПК A01G7/00 A01H1/04. Способ определения относительной устойчивости сортов мягкой яровой пшеницы к хлоридному засолению / Т.А. Гурова, В.Ю. Березина, Н.С. Куцерубова. Опубл. 10.04.2012.
Patent RU 2446671 МПК A01G7/00 A01H1/04. Evaluation method of relative resistance of soft wheat cultivar to chloride salinity / Т.А. Gurova, V.Yu. Berezina, N.S. Kutserubova. Published on 10.04.2012. (In Russ.)
- [24] **Гурова Т.А., Альт В.В.** Комплексный подход в исследовании стрессоустойчивости зерновых культур // *Фундаментальные и прикладные проблемы науки: Матер. 8-го Междунар. симп. М.: РАН, 2013. Т. 6. С. 152–157.*
Gurova, T.A., Alt, V.V. Complex approach in research of the grain crops' stress resistance // *Fundamental and applied scientific problems: Materialy 8-go Mezhdunarodnogo simpoziuma. Moscow: RAN, 2013. Vol. 6. P. 152–157. (In Russ.)*
- [25] **Гурова Т.А., Березина В.Ю.** Сравнительный анализ лабораторных методов диагностики устойчивости пшеницы к засолению // *Сиб. вестн. с.-х. науки. 2009. № 3. С. 105–111.*
Gurova, T.A., Berezina, V.Yu. Comparative analysis of laboratory methods for diagnosing the resistance of wheat to salinization // *Siberian Herald of Agricultural Science. 2009. № 3. P. 105–111. (In Russ.)*

Поступила в редакцию 20 октября 2016 г.

Instrumental methods, hardware and software tools to solve the problems related to the resistance to stress in plant growing

GUROVA, TAMARA A.*, OSIPOVA, GALINA M.

Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk of Novosibirsk Region, 630501, Russia

* Corresponding author: Gurova, Tamara A., e-mail: guro-tamara@yandex.ru

This article discusses approaches towards optimization of solutions for the problems related to the interaction between genotype and environment. It also discusses the methods of tackling these problems based on the complex interdis-

ciplinary approach and the use of information technologies. The article explores hardware and software tools and instrumental methods of stress resistance screening, which can be applied for development of adaptation programs in plant research for the cases of climate change and for research on interaction between genotype and environment.

A complex of hardware and software tools instruments was developed with the purpose of conducting research on plant stress resistance assessment. This complex includes the recorder of superweak luminescence light of plants and biological environment "FOTON", the computer-based laboratory conductometer aimed at assessment of plant cell membrane permeability, the virtual tool "LISTOMER" for measure of the total leaf area and the deceased leaf area, and the equipment generating artificial climate "BIOTRON".

The article explores patterns of changes in diagnostic parameters of the common spring wheat and barley resistance towards different stress agents. It discusses the stress resistance criteria on different biological levels, namely, cytogenetic (smooth bromegrass – *Bromopsis inermis* L.), cellular, organismal (spring common wheat and barley) and populational (smooth bromegrass – *Bromopsis inermis* L.).

The complex of biophysical methods for the assessment of the stress resistance of barley and wheat cultivars towards root rot of cereals and chloride salinity based on the measure of the delayed fluorescence of leaves, superweak luminescence of roots and root exudates of plants, the electrical conductivity of the aqueous extracts of the leaves is developed. Four patents have been received for these findings. The obtained results of our research allow us to optimize methods for screening of plant resistance to stress and can be used in the creation of various programs of adaptation of crop production under climate change.

Keywords: instrumental methods, hard- and software methods, stress resistance, spring common wheat (*Triticum aestivum* L.), smooth bromegrass (*Bromopsis inermis* L.).

Acknowledgements. The article publication was supported by RFBR (grant No. 16-07-20001).

Received 20 October 2016