

# ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.1

doi: 10.17223/19988591/44/9

Е.Д. Данилова, Ю.В. Медведева, М.В. Ефимова

Национальный исследовательский Томский государственный университет,  
г. Томск, Россия

## Влияние хлоридного засоления на ростовые и физиологические процессы растений *Solanum tuberosum* L. среднеспелых сортов

Исследование выполнено при финансовой поддержке  
Российского научного фонда (грант № 16-16-04057).

Исследовано действие разных концентраций NaCl (в диапазоне от 50 до 150 мМ) на ростовые (линейные размеры побега и корня, площадь листовой поверхности, количество столонов, сырая и сухая биомассы надземной и подземной частей растений) и физиологические (содержание фотосинтетических пигментов в листьях, уровень пролина и интенсивность перекисного окисления липидов в листьях, стебле и корнях) показатели картофеля среднеспелых сортов Луговской и Накра. Оздоровленные растения-регенеранты картофеля *in vitro* получали методом микроклонального размножения и адаптировали на питательной среде Мурасиге-Скуга с половинным содержанием макро- и микроэлементов (0,5 МС). Ростовые параметры растений картофеля сорта Луговской при отсутствии стрессора превышали показатели растений сорта Накра; содержание всех групп фотосинтетических пигментов почти не отличалось. Хлоридное засоление (50 мМ) оказывало выраженный негативный эффект на столонообразование у сорта Накра; увеличение концентрации до 150 мМ способствовало снижению количества столонов и площади ассимилирующей поверхности в большей степени для растений картофеля сорта Луговской. Интенсивность перекисного окисления липидов в растениях картофеля сорта Накра при отсутствии действия стрессора превышала аналогичные значения растений сорта Луговской. Хлоридное засоление, начиная с концентрации 50 мМ для сорта Луговской и 100 мМ для сорта Накра вызывало увеличение содержания МДА при использовании экстрактов из листьев. Распределение пролина по частям растений у картофеля различных сортов отличалось, у сорта Накра наибольшее содержание выявлено в листьях, наименьшее – в корнях, у сорта Луговской пролин преобладал в стеблях растений, минимальное содержание отмечено в корнях. Слабое и умеренное (50 и 100 мМ) хлоридное засоление активировали накопление пролина в большей степени у растений картофеля сорта Луговской, интенсивное (150 мМ) засоление – у растений сорта Накра. Полученные результаты могут быть полезны для

*разработки технологии повышения солеустойчивости изучаемых сортов и выбора наиболее коммерчески выгодного сорта.*

**Ключевые слова:** *устойчивость; органоспецифичность; фотосинтетические пигменты; перекисное окисление липидов; пролин; in vitro.*

## Введение

В XXI в. перед производителями продуктов питания встала непростая задача – выявить сельскохозяйственные и технические культуры с более высокими и стабильными урожаями для обеспечения пищевой безопасности в условиях неблагоприятных изменений климата и техногенного загрязнения среды обитания. С одной стороны, данная потребность связана с ежегодно возрастающей численностью населения планеты, что вызывает острый продовольственный кризис, с другой стороны, она обусловлена снижением качества почвы из-за высокой антропогенной нагрузки [1]. Наиболее распространенный абиотический стрессор – засоление, которое может возникнуть естественным образом в недрах материнской породы или быть результатом использования опресненной воды для орошения [2–3]. Агрономические и инженерные способы минимизации засоления не способны решить эту проблему на глобальном уровне [4]. В настоящее время засолению подвержено более 20% орошаемых земель, и эта площадь прогнозируемо увеличится до 50% к 2050 г. [5–7]. Наиболее губительно влияние засоления в аридных и полуаридных регионах, где высокое содержание солей в почве сопровождается высокой температурой и хроническим недостатком влаги [8]. Несмотря на выраженный негативный эффект NaCl на растения, ионы хлора, эссенциального элемента, могут осуществлять осмотическую и тургорную регуляцию и включаться в координацию процессов роста и фотосинтеза [9]. В то же время диапазон безопасных концентраций NaCl очень узок и сильно варьирует в зависимости от вида растения и его возраста. Интенсивное засоление негативно отражается на осуществлении многих физиологических процессов у растений, в большей степени за счёт генерации активных форм кислорода (АФК) и развития окислительного стресса, что приводит к нарушению работы фотосинтетического аппарата, снижению интенсивности фотосинтеза и как следствие снижению продуктивности растений [10–11]; индукции процессов старения или преждевременной гибели растения [8]. Около тридцати сельскохозяйственных культур обеспечивают 90% продовольствия, подавляющее большинство из них являются гликофитами [3]. Картофель является четвертой продовольственной культурой в мире после риса, пшеницы и кукурузы [12]. Растения картофеля диких видов относительно устойчивы к засолению [13], однако современные сорта, являющиеся продуктом долговременной селекции, значительно более подвержены действию соли [14–15]. Все это остро ставит вопрос о необходимости изучения солеустойчивости картофеля и поиска критериев отбора наиболее коммерчески выгодных сортов, что невозможно сделать без сравнения физиологических механизмов солеустойчивости хозяйственно ценных генотипов.

### Материалы и методики исследования

Исследования проведены на растениях *Solanum tuberosum* L. средне-спелых сортов Луговской и Накра. Исходные оздоровленные материнские микроклоны *S. tuberosum* получены из Всероссийского научно-исследовательского института картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха (п. Коренево, Россия).

Оздоровленные растения-регенеранты получали методом микроклонального размножения *in vitro* и культивировали на агаризованной питательной среде МС с половинным составом микро- и макроэлементов (0,5 МС) в течение 21 сут. Корни растений отмывали от агаризованной среды и проводили адаптацию микроклонов к жидкой среде МС (половинной) и условиям воздушной среды под люминесцентными лампами L36W/77 Fluora «Osram» (Германия) при плотности потока квантов ФАР 200–250 мкмоль  $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$  в фитотроне с 16-часовым фотопериодом и температурой  $20 \pm 3^\circ\text{C}$ . После 2-недельного роста растений на гидропонной установке в среде 0,5 МС 6-недельные растения переносили на ту же самую среду с добавлением NaCl в диапазоне концентраций от 50 до 150 мМ (опытные варианты). В качестве контрольного варианта использовали питательную среду 0,5 МС без добавления NaCl. Питательную среду в условиях гидропоники заменяли каждые 3,5 сут. Через 7 сут эксперимента растительный материал фиксировали и использовали его для проведения анализов. Оценку морфометрических показателей проводили не менее чем на 10 растениях каждого варианта.

Для определения количественного содержания пролина и оценки интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) листья средних ярусов, средние части стебля и корни фиксировали жидким азотом; активность ферментов оценивали в листьях растений, фиксированных в жидком азоте; для определения уровня фотосинтетических пигментов в листьях растений использовали 96%-ный этанол.

Свежую и сухую биомассы растительного материала оценивали гравиметрическим методом. Сухую массу определяли после фиксации материала при  $90^\circ\text{C}$  и его высушивания при  $70^\circ\text{C}$  до постоянного веса. Содержание воды (процент от сырой массы) рассчитывали, исходя из отношения разности сырой и сухой биомассы, отнесенной к сырой массе.

Для оценки содержания фотосинтетических пигментов листья (15 мг) растирали в 96%-ном этаноле, и полученный гомогенат центрифугировали 10 мин при 8000 об/мин в центрифуге MiniSpin, «Eppendorf» (Германия). Оптическую плотность спиртового раствора (итоговый объем вытяжки составил 1,5 мл) измеряли на спектрофотометре Genesys 10S UV–Vis «ThermoScientific» (США). Содержание пигментов в спиртовом экстракте рассчитывали по формулам, приведенным Lichtenthaler [16].

Интенсивность ПОЛ оценивали спектрофотометрическим методом, основанным на образовании окрашенного комплекса – продукта малонового

диальдегида (МДА) в реакции с тиобарбитуровой кислотой при нагревании [17].

Экстракцию и определение свободного пролина проводили по методу Bates [18] с небольшими модификациями [19].

Все эксперименты проведены в трехкратной повторности. Для оценки ростовых показателей анализировали по 12–15 растений в каждом варианте; физиологические параметры определяли для 3–4 растений каждого варианта не менее чем в трёх аналитических повторностях. Полученные результаты представлены на рисунках в виде средней арифметической величины со стандартной ошибкой. Для сравнения независимых выборок, подчиняющихся закону нормального распределения, использовали параметрический критерий Стьюдента. Значения *t*-критерия находили для 95%-ного уровня значимости ( $p < 0,05$ ).

### Результаты исследования и обсуждение

Разнообразие современных сортов картофеля позволяет выбрать виды, подходящие для определённых условий местообитаний, что отчасти является залогом высокой урожайности. Помимо этого, одним из главных критериев выбора является скорость созревания, однако даже картофель, относящийся к одной и той же группе (ранних, среднеранних, среднеспелых, среднепоздних или поздних) сортов характеризуется индивидуальными особенностями ростовых и физиологических реакций.

Ростовые показатели растений картофеля сорта Луговской при отсутствии хлоридного засоления превышали параметры растений сорта Накра (в 1,5 раза по длине побега, количеству ярусов и сырой массе и в 2,7 раза по числу столонов), несмотря на их общую принадлежность к группе среднеспелых сортов (таблица). Содержание фотосинтетических пигментов у двух сортов оказалось примерно одинаковым (рис. 1); уровень пролина выше у растений сорта Накра, в основном, благодаря его избыточному накоплению в стеблях и корнях растений (рис. 2). Степень перекисного окисления липидов также выше в листьях, стебле и корнях растений сорта Накра в 1,4; 3,3 и 2 раза соответственно (рис. 3).

Известно, что хлоридное засоление влияет на протекание всех основных физиологических процессов растений [20, 21]. Требуется понимание механизмов, обеспечивающих рост и продуктивность растений в условиях засоления, для поиска наиболее устойчивых видов и разработки технологий сохранения урожая на засоленных почвах.

Растения сорта Накра проявляли повышенную чувствительность к действию NaCl в минимальной из анализируемых нами концентраций – 50 мМ. Количество столонов снижалось на 43%, длина побега уменьшилась на 23%, в то время как у растений сорта Луговской число столонов сократилось только на 20% (см. таблицу). Увеличение интенсивности хлоридного засоления

в 2 раза (100 мМ) почти не изменило ростовые показатели растений сорта Накра по сравнению с действием 50 мМ NaCl, за исключением суммарной массы растений (уменьшилась на 20% относительно контрольной величины). В то же время растения сорта Луговской отвечали на засоление значительным снижением количества столонов и суммарной сырой массы растений в 2,6 и 1,5 раза соответственно; другие показатели (длина побега, число ярусов, суммарная площадь листьев) снизились незначительно (см. таблицу).

**Влияние засоления (50–150 мМ NaCl) на ростовые показатели *Solanum tuberosum***  
**[The effect of salinity (50–150 mM NaCl) on growth parameters of *Solanum tuberosum*] (M ± m)**

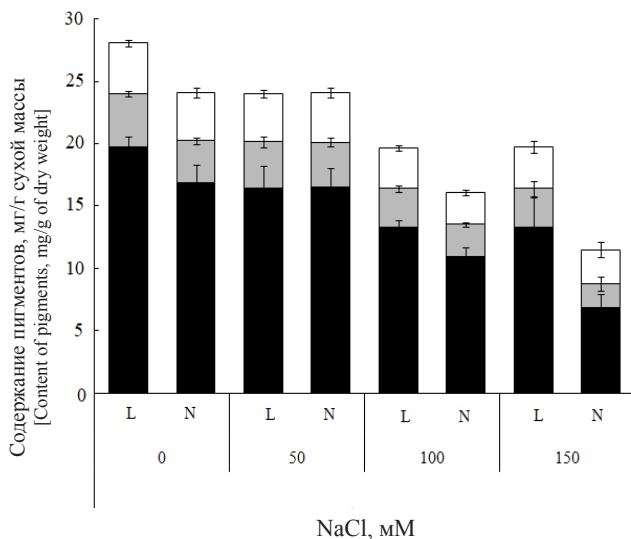
NaCl, мМ	Длина побега, см [Shoot length, cm]	Длина корня, см [Root length, cm]	Число столо- нов, шт. [Num- ber of stolons, pcs.]	Число ярусов, шт. [Number of layers, pcs.]	Сум- марная площадь листьев, см <sup>2</sup> [Leaf surface area, cm <sup>2</sup> ]	Содержание воды [Water content], %		Суммар- ная сы- рая масса растения, г [Total wet mass of plants, g]
						Побег [Shoot]	Корень [Root]	
Сорт Луговской [cv. Lugovskoy]								
0	13,16 ±0,26	14,15 ±0,61	5,25 ±0,37	12,00 ±0,30	47,82 ±3,42	88,66 ±0,15	93,99 ±0,21	5,72 ±0,49
50	13,18 0,33	14,60 ±0,36	4,17 ±0,24*	12,17 ±0,39	46,19 ±3,71	90,23 ±0,83	94,63 ±0,15	4,82 ±0,33*
	±100%	103%	79%	101%	97%			84%
100	11,53 ±0,33*	16,95 ±1,51*	2,00 ±0,33*	10,67 ±0,31*	41,29 ±2,94*	89,03 ±0,20	94,49 ±0,24	3,84 ±0,34*
	88%	120%	38%	89%	86%			73%
150	11,23 ±0,30*	11,87 ±0,74*	1,17 ±0,47*	9,45 ±0,31*	15,14 ±2,83*	88,53 ±0,39	94,12 ±0,53	1,96 ±0,18*
	85%	84%	22%	79%	32%			34%
Сорт Накра [cv. Nakra]								
0	7,98 ±0,32	18,24 ±0,82	1,92 ±0,50	7,58 ±0,40	40,06 ±4,56	88,20 ±0,76	92,62 ±0,40	3,62 ±0,29
50	6,15 ±0,20*	22,27 ±0,82*	1,10 ±0,19*	7,25 ±0,22	38,27 ±4,17	89,68 ±0,81	93,62 ±0,13	3,61 ±0,53
	77%	122%	57%	96%	96%			100%
100	6,56 ±0,34*	15,52 ±0,86	1,08 ±0,29*	7,83 ±0,41	38,50 ±3,56	88,56 ±0,49	93,70 ±0,25	2,89 ±0,34*
	82%	91%	56%	103%	96%			80%
150	4,71 ±0,28*	10,52 ±0,74*	1,00 ±0,53*	5,57 ±0,20*	16,52 ±4,99	85,57 ±0,84*	94,11 ±0,32*	1,01 ±0,28*
	59%	58%	52%	74%	41%			28%

*Примечание.* М – среднее арифметическое, ± m – стандартная ошибка, \*p < 0,05 при сравнении с контролем. % – отражает содержание относительно соответствующего контрольного значения.

[Note. M - mean, ± m - standard error of the mean, \*p < 0.05 compared to control. % reflects the content relative to the corresponding reference value].

Повышение концентрации NaCl до 150 мМ вызывало существенное подавление роста растений картофеля сорта Накра. Примерно в два раза уменьшались длина осевых органов, количество столонов, суммарная площадь ассимилирующей поверхности; в 3,6 раза снижалась масса растений (см. таблицу). Аналогичные условия у растений сорта Луговской в большей степени, вызвали подавление образования столонов (в 4,5 раза), сокращение суммарной площади листьев и сырой массы растений в 3,2 и 2,9 раза соответственно (см. таблицу).

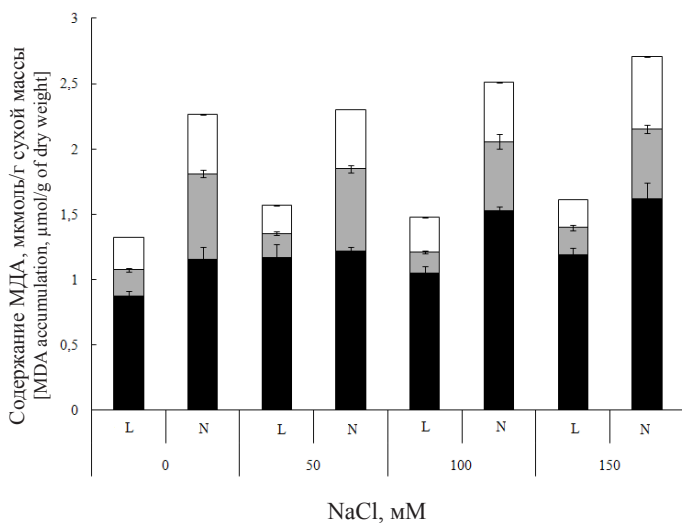
Один из выраженных негативных эффектов хлоридного засоления на ассимилирующий аппарат растений связан с ингибированием синтеза фотосинтетических пигментов [22]. Отрицательное влияние NaCl на содержание фотосинтетических пигментов в расчёте на сухую массу начинало проявляться при концентрации 100 мМ. Так, для сорта Накра содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов в листьях растений уменьшалось на 39, 29 и 36% соответственно (рис. 1). Дальнейшее увеличение концентрации стрессирующего агента до 150 мМ приводило к снижению уровня хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов на 59, 44 и 30% соответственно; соотношение суммы хлорофиллов к каротиноидам сдвигалось со значения 5,3 до 3,3 (см. рис. 1). Для сорта Луговской негативный эффект засоления менее выражен; значения для аналогичных показателей при 100 и 150 мМ NaCl снизились на 33, 27 и 18–20%, соотношение суммы хлорофиллов к каротиноидам сдвинулось со значения 5,9 до 5,0 (см. рис. 1).



**Рис. 1.** Влияние засоления на содержание фотосинтетических пигментов в листьях *Solanum tuberosum*; L – сорт Луговской, N – сорт Накра; черные колонки – хлорофилл *a*, серые колонки – хлорофилл *b*, белые колонки – каротиноиды  
**[Fig. 1.** The effect of salinity on the content of photosynthetic pigments in *Solanum tuberosum* leaves. L - cv. Lugovskoy, N - cv. Nakra; Black columns - Chlorophyll *a*; Gray columns - Chlorophyll *b*; White columns - Carotenoids]

Возможно, снижение уровня хлорофиллов связано с увеличением активности фермента хлорофиллазы, что, в свою очередь, приводит к нарушению структуры хлоропласта и дестабилизации пигмент-белкового комплекса [23]. Окисление фотосинтетических пигментов является дополнительной причиной образования активных форм кислорода (АФК) и способствует развитию окислительного стресса [23].

Нами показано, что содержание МДА в реакционной среде возрастало на 32–40% при использовании экстрактов листьев растений *S. tuberosum* сорта Накра, подвергнутых солевому воздействию 100 и 150 мМ, по сравнению с контрольными растениями соответственно; в экстрактах листьев сорта Луговской увеличение содержания МДА наблюдалось в диапазоне концентраций NaCl 50–150 мМ и составляло примерно 301,7% (рис. 2). Изменения уровня МДА в стеблях и корнях растений двух сортов при хлоридном засолении в сравнении с контрольными вариантами не наблюдалось, за исключением реакции с использованием корней растений сорта Накра при 150 мМ NaCl (см. рис. 2).



**Рис. 2.** Влияние засоления на накопление МДА при использовании экстрактов разных частей растений *Solanum tuberosum*; L – сорт Луговской, N – сорт Накра; черные колонки – экстракт листьев, серые колонки – экстракт стеблей, белые колонки – экстракт корней

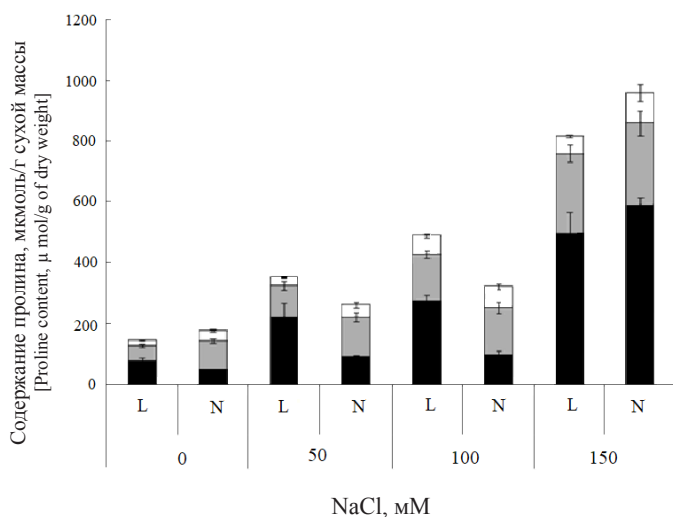
[Fig. 2. The effect of chloride salinity of different intensity on MDA accumulation when using extracts from different parts of *Solanum tuberosum* plants. L - cv. Lugovskoy, N - cv. Nakra; Black columns - Leaf extract, Gray columns - Stem extract, White columns - Root extract]

Как известно, для снижения негативного воздействия окислительного стресса в растениях активируются антиоксидантные защитные системы, действие которых направлено на гашение АФК. Повышенный интерес в

этой связи могут представлять ферментативные (СОД, каталаза, пероксидаза и др.) и неферментативные системы антиоксидантной защиты (каротиноиды, низкомолекулярные фенольные соединения, пролин и т.д.) [24].

Аккумуляция пролина является одним из наиболее заметных изменений в метаболизме растений в их ответе на солевой стресс. В литературе широко распространена теория о первостепенной роли пролина в качестве осморегулятора. Значительное число исследований показало, что характер, концентрация и эффективность пролина при солевом стрессе зависят от вида растения, сорта, стадии развития, а также типа и интенсивности солевого стресса [2].

В оптимальных условиях (при отсутствии стрессора) у растений сорта Накра содержание пролина в стеблях в два раза выше, чем в листьях. Подобная тенденция сохранялась и при умеренном засолении (до 100 мМ NaCl), однако при этом различия между частями растений выражены в меньшей степени (рис. 3).



**Рис. 3.** Влияние засоления на содержание пролина в разных частях растений *Solanum tuberosum*: L – сорт Луговской, N – сорт Накра; черные колонки – в листьях, серые колонки – в стеблях, белые колонки – в корнях

[Fig. 3. The effect of chloride salinity of different intensity on proline content in different parts of *Solanum tuberosum* plants. L - cv. Lugovskoy, N - cv. Nakra; Black columns - Leaves, Gray columns - Stems, White columns - Roots]

Интенсивное засоление привело к тому, что уровень пролина в листьях превысил таковой в стеблях растений сорта Накра в два раза. Содержание пролина в подземной части растений оказалось ниже, чем в надземной, независимо от наличия стрессового фактора в среде и его интенсивности (см. рис. 3). В растениях картофеля сорта Луговской в контрольных условиях и



при хлоридном засолении наибольший уровень пролина отмечен в листьях, наименьший – в корнях. Во всех частях растений данного сорта в ответ на слабое и умеренное засоление наблюдалось планомерное увеличение уровня пролина; так, в случае действия 50 мМ NaCl это увеличение составляло 1,6–2,9 раза, при 100 мМ – 2,9–3,6 раза. Аналогичные концентрации NaCl (50 и 100 мМ) в среде повышали содержание пролина в надземных и подземных частях растений сорта Накра только в 1,4–2,0 раза (см. рис. 3). Значительное увеличение уровня пролина отмечено при 150 мМ NaCl в листьях картофеля сорта Накра, содержание пролина достигло значения 588,4 мкмоль/г сухой массы, что в 12 раз превышало данный показатель контрольного варианта; в листьях сорта Луговской содержание пролина увеличилось в 6,6 раза и составило 497,3 мкмоль/г сухой массы. Стебли и корни растений ответили на действие интенсивного хлоридного засоления менее выраженным увеличением содержания пролина: в 2,7–2,9 раза для сорта Накра и 3,3–5 раз – сорта Луговской.

### Заключение

Исследовано влияние хлоридного засоления на рост и физиологические параметры растений картофеля среднеспелых сортов Луговской и Накра. Выявлены различия сортов по устойчивости к низким (50 мМ) и высоким (150 мМ) концентрациям NaCl. Обсуждаются возможные защитные механизмы солеустойчивости.

### Литература

1. Singh B., Mishra S., Bohra A., Joshi R., Siddique K.H.M. Crop phenomics for abiotic stress tolerance in crop plants // Biochemical, physiological and molecular avenues for combating abiotic stress tolerance in plants. Wani H. editor. 2018. PP. 277–296. doi: [10.1016/B978-0-12-813066-7.00015-2](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813066-7.00015-2)
2. Mansour M.M.F., Ali E.F. Evaluation of proline functions in saline conditions // Phytochemistry. 2017. Vol. 140. PP. 52–68. doi: [10.1016/j.phytochem.2017.04.016](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.04.016)
3. Zörb C., Geilfus C.M., Dietz K.J. Salinity and crop yield // Plant biology. 2018. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/plb.12884> (дата обращения: 10.11.2018).
4. Munns R., Gilliham M. Salinity tolerance of crops – what is the cost? // New phytologist. 2015. Vol. 208, № 3. PP. 668–673. <https://doi.org/10.1111/nph.13519>
5. Qadir M., Quillerou E., Nangia V., Murtaza G., Singh M., Thomas R.J., Noble A.D. Economics of salt-induced land degradation and restoration // Natural resources forum. 2014. Vol. 38. PP. 282–295. <https://doi.org/10.1111/1477-8947.12054>
6. Shrivastava P., Kumar R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation // Saudi journal of biological sciences. 2015. Vol. 22, № 2. PP. 123–131. doi: [10.1016/j.sjbs.2014.12.001](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001)
7. Tavakkoli E., Rengasamy P., McDonald G.K. High concentrations of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress // Journal of Experimental Botany. 2010. Vol. 61, №15. PP. 4449–4459. doi: [10.1093/jxb/erq251](https://doi.org/10.1093/jxb/erq251)

8. AbdElgawad H., Zinta G., Hegab M.M., Pandey R., Asard H., Abuelsoud W. High salinity induces different oxidative stress and antioxidant responses in maize seedlings organs // *Frontiers in plant science*. 2016. Vol. 7. PP. 1–11. doi: [10.3389/fpls.2016.00276](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00276)
9. Geilfus C.M. Chloride in soil: From nutrient to soil pollutant // *Environmental and Experimental biology*. 2019. Vol. 157. PP. 299–309. doi: [10.1016/j.envexpbot.2018.10.035](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.10.035)
10. Gao H.J., Yang H.Y., Bai J.P., Liang X.Y., Lou Y., Zhang J.L., Wang D., Zhang J.L., Niu S.Q., Chen Y.L. Ultrastructural and physiological responses of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlets to gradient saline stress // *Frontiers in plant science*. 2015. Vol. 5. PP. 1–14. doi: [10.3389/fpls.2014.00787](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00787)
11. Nxele X., Klein A., Ndimba B.K. Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants // *South African journal of botany*. 2017. Vol. 108. PP. 261–266. doi: [10.1016/j.sajb.2016.11.003](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.11.003)
12. Statistical yearbook of the Food and Agricultural Organization for the United Nations. FAO STAT-Agriculture. 2012. FAO STAT-Agriculture. URL: <http://www.fao.org/docrep/018/i3107e/i3107e03.pdf> (дата обращения: 10.09.2018).
13. Jaarsma R., de Boer A. H. Salinity tolerance of two potato cultivars (*Solanum tuberosum*) correlates with differences in vacuolar transport activity // *Frontiers in plant science*. 2018. Vol. 9. 737. PP. 1–12. doi: [10.3389/fpls.2018.00737](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00737)
14. Jaarsma R., de Vries R.S.M., de Boer A.H. Effect of salt stress on growth, Na<sup>+</sup> accumulation and proline metabolism in potato (*Solanum tuberosum*) cultivars // *PLOS One*. 2013. Vol. 8, № 3. e60183. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060183>
15. Faried H.F., Ayyub C.M., Amjad M., Ahmed R. Salinity impacts ionic, physiological and biochemical attributes in potato // *Pakistan journal of agricultural sciences*. 2016. Vol. 53. PP. 17–25. doi: [10.21162/PAKJAS/16.4766](https://doi.org/10.21162/PAKJAS/16.4766)
16. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // *Methods in enzymology*. 1987. Vol. 148. PP. 350–382. [http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
17. Buege J.A., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation // *Methods in enzymology*. 1978. Vol. 52. PP. 302–310. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(78)52032-6)
18. Bates L.S., Waldran R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // *Plant and soil*. 1973. Vol. 39. PP. 205–212. <http://dx.doi.org/10.1007/BF0001806>
19. Ефимова М.В., Мануйлова А.В., Малофий М.К., Карташов А.В., Кузнецов Вл.В. Защитная роль брассиностероидов при засолении проростов *Brassica napus* L. // *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2013. № 1 (21). С. 118–129. doi: [10.17223/19988591/21/9](https://doi.org/10.17223/19988591/21/9)
20. Ефимова М.В., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Малофий М.К., Видершпан А.Н., Плюснин И.Н., Головацкая И.Ф., Мураган О.К., Кузнецов Вл.В. Физиологические механизмы устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению // *Физиология растений*. 2018. Т. 65, № 3. С. 196–206. <https://doi.org/10.7868/S001533031803003X>
21. Li W., Li Q. Effect of environmental salt stress on plants and the molecular mechanism of salt stress tolerance // *International journal of environmental sciences and natural resources*. 2017. Vol. 7. PP. 1–6. doi: [10.19080/IJESNR.2017.07.555714](https://doi.org/10.19080/IJESNR.2017.07.555714)
22. Wungrampha S., Joshi R., Singla-Pareek S.L., Pareek, A. Photosynthesis and salinity: are these mutually exclusive? // *Photosynthetica*. 2018. Vol. 56, № 1. PP. 366–381. doi: [10.1007/s11099-017-0763-7](https://doi.org/10.1007/s11099-017-0763-7)
23. Lotfi R., Gharavi-Kouchebagh P., Khoshvaghti H. Biochemical and physiological responses of *Brassica napus* plants to humic acid and under water stress // *The Russian journal of plant physiology*. 2015. Vol. 62. PP. 480–486. doi: [10.7868/S0015330315040120](https://doi.org/10.7868/S0015330315040120)
24. Bose J., Rodrigo-Moreno A., Shabala S. ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance // *Journal of experimental botany*. 2014. Vol. 65, № 5. PP. 1241–1257. doi: [10.1093/jxb/ert430](https://doi.org/10.1093/jxb/ert430)

Поступила в редакцию 25.09.2018 г.; повторно 14.11.2018 г.,  
принята 27.11.2018 г.; опубликована 27.12.2018 г.

**Авторский коллектив:**

**Данилова Елена Дмитриевна** – аспирант кафедры физиологии растений и биотехнологии Биологического института, Национальный исследовательский Томский государственный университет; м.н.с. УНЛ биотехнологии и биоинженерии (Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36).

E-mail: [nusy.l.d@gmail.com](mailto:nusy.l.d@gmail.com)

**Медведева Юлия Валерьевна** – старший лаборант кафедры физиологии растений и биотехнологии Биологического института, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36).

E-mail: [souris@mail.ru](mailto:souris@mail.ru)

**Ефимова Марина Васильевна** – канд. биол. наук, доцент кафедры физиологии растений и биотехнологии Биологического института, Национальный исследовательский Томский государственный университет (Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36).

E-mail: [stevmv555@gmail.com](mailto:stevmv555@gmail.com)

**For citation:** Danilova ED, Medvedeva YuV, Efimova MV. The effect of chloride salinity on growth and physiological processes in mid-ripening varieties of *Solanum tuberosum* plants. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = *Tomsk State University Journal of Biology*. 2018;44:158-171. doi: 10.17223/19988591/44/9 In Russian, English Summary

**Elena D. Danilova, Yulia V. Medvedeva, Marina V. Efimova**

*Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation*

**The effect of chloride salinity on growth and physiological processes  
in mid-ripening varieties of *Solanum tuberosum* plants**

Significant expansion of saline territories due to climate aridization and man-made pressure on the environment reduces the productivity of the most important crops. The intense salinity affects the basic physiological processes of plants, inhibiting growth and reducing productivity. In response to salt stress, the plant responds with multiple molecular, metabolic and physiological reactions aimed at the formation of protector systems and the organism adaptation to stressful environmental conditions. The potato ranks fourth among the major world food crops and its production is very important for ensuring food security and social stability in many countries. Wild potato species are highly tolerant to stress, however, modern varieties are the product of a long-term breeding, significantly more susceptible to salinization. All this raises the question of the need to study the potato tolerance to salt stress and to specify criteria for selecting the most commercially viable varieties. This cannot be done without comparing salt tolerance physiological mechanisms for economically valuable genotypes.

We studied the physiological (the level of photosynthetic pigments in leaves, content of proline and lipid peroxidation degree in leaves, stem and roots) and growth (the length of axial organs, leaf surface area, wet and dry biomass) parameters of cv. Lugovskoy and cv. Nakra potato plants exposed to chloride salinity of different intensity (50-150 mM NaCl). We obtained disease-free regenerants of potato plants *in vitro* by the method of microclonal propagation and adapted them on Murashige and Skoog medium (0.5 MS) with half the content of macro- and microelements during 21 days. After growing on a hydroponic unit, the plants were transferred to the same medium with the addition of NaCl. The plants were fixed and used for the assays 7 days after the beginning of the experiment. The leaves of the middle layers, middle parts of the stem and roots were fixed with liquid nitrogen to determine the amount of proline and

assess the intensity of lipid peroxidation; 96% ethanol was used to determine the level of photosynthetic pigments in plant leaves. We evaluated morphometric parameters on at least 10 plants for each variant.

The results of the studies showed differences in the salt tolerance between two varieties of potatoes. Growth parameters of cv. Lugovskoy plants exceeded cv. Nakra plants in the absence of stress (See Table). Low intensity of salinity (50 mM) had a pronounced negative effect on cv. Nakra stolon formation; concentration increasing to 150 mM suppressed the stolon formation and decreased the area of the assimilating surface, to a greater degree, for cv. Lugovskoy plants (See Table). One of the most negative effects of salinization affecting the assimilating apparatus of plants is the inhibition of the level of photosynthetic pigments. The contents of all pigment groups were similar for the two varieties, the negative influence of NaCl in the calculation on the dry weight began at a concentration of 100 mM. For cv. Lugovskoy, the negative effect of salinity was less pronounced (See Fig. 1). Salinity as well as other types of abiotic stress increases ROS production. The lipid peroxidation degree in potato plants of the cv. Nakra without stressor was higher than that of cv. Lugovskoy (See Fig. 2). Under salt condition, the content of MDA in the reaction approximately increased by 32-40% with the use of leaf extracts of cv. Nakra *S. tuberosum*, as compared to the control plants; in leaf extracts of cv. Lugovskoy, an increase in the content of MDA was approximately 300 %. There was no change in the level of MDA in the stems and roots of two varieties under chloride salinity compared to the control plants, except for root extracts of cv. Nakra 150 mM NaCl (See Fig. 2). Proline accumulation is one of the most marked changes in plant metabolism in response to salt stress. Proline distribution in potato plant parts was different: for cv. Nakra the maximum level was reached in the leaves and the minimum - in the roots, for cv. Lugovskoy the maximum level was observed in the stems and the minimum - in the roots (See Fig. 3). Weak and moderate (50 and 100 mM) chloride salinity activated the accumulation of proline, largely, in cv. Lugovskoy potato plants, and intensive (150 mM) salinization - in cv. Nakra plants (See Fig. 3). The obtained results can be useful for developing a technology to improve salt tolerance of the studied cultivars and to opt for the most commercially viable variety.

*The paper contains 3 Figures, 1 Table and 24 References.*

**Key words:** resistance; organ specificity; photosynthetic pigments; lipid peroxidation; proline; *in vitro*.

**Funding:** The research was supported by the Russian Science Foundation (Grant No16-16-04057).

### References

1. Singh B, Mishra S, Bohra A, Joshi R, Siddique KHM. Crop phenomics for abiotic stress tolerance in crop plants. In: *Biochemical, Physiological and Molecular Avenues for Combating Abiotic Stress in Plants*. Wani SH, editor. Publisher: Academic Press; 2018. pp. 277-296. doi: [10.1016/B978-0-12-813066-7.00015-2](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813066-7.00015-2)
2. Mansour MMF, Ali EF. Evaluation of proline functions in saline conditions. *Phytochemistry*. 2017;140:52-68. doi: [10.1016/j.phytochem.2017.04.016](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.04.016)
3. Zörb C, Geilfus CM, Dietz KJ. Salinity and crop yield. *Plant Biology*. 2018. doi: [10.1111/plb.12884](https://doi.org/10.1111/plb.12884)
4. Munns R, Gilliham M. Salinity tolerance of crops - what is the cost? *New phytologist*. 2015;208(3):668-673. doi: [10.1111/nph.13519](https://doi.org/10.1111/nph.13519)
5. Qadir M, Quillerou E, Nangia V, Murtaza G, Singh M, Thomas RJ, Noble AD. Economics of salt-induced land degradation and restoration. *Natural Resources Forum*. 2014;38:282-295. doi: [10.1111/1477-8947.12054](https://doi.org/10.1111/1477-8947.12054)

6. Shrivastava P, Kumar R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2015;22(2):123-131. doi: [10.1016/j.sjbs.2014.12.001](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001)
7. Tavakkoli E, Rengasamy P, McDonald GK. High concentrations of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress. *Journal of Experimental Botany*. 2010;61(15):4449-4459. doi: [10.1093/jxb/erq251](https://doi.org/10.1093/jxb/erq251)
8. Abdelgawad H, Zinta G, Hegab MM, Pandey R, Asard H, Abuelsoud W. High salinity induces different oxidative stress and antioxidant responses in maize seedlings organs. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:276. doi: [10.3389/fpls.2016.00276](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00276)
9. Geilfus CM. Chloride in soil: From nutrient to soil pollutant. *Environmental and Experimental Botany*. 2019;157:299-309. doi: [10.1016/j.envexpbot.2018.10.035](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.10.035)
10. Gao HJ, Yang HY, Bai JP, Liang XY, Lou Y, Zhang JL, Wang D, Zhang JL, Niu SQ, Chen YL. Ultrastructural and physiological responses of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlets to gradient saline stress. *Frontiers in Plant Science*. 2015;5:787. doi: [10.3389/fpls.2014.00787](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00787)
11. Nxele X, Klein A, Ndimba BK. Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants. *South African Journal of Botany*. 2017;108:261-266. doi: [10.1016/j.sajb.2016.11.003](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.11.003)
12. FAO Statistical yearbook. 2013. World Food and Agricultural. Rome: Food and Agricultural Organization for the United Nations, 2013. [Electronic resource]. Available at: <http://www.fao.org/docrep/018/i3107e/i3107e.PDF> (accessed 10.09.2018).
13. Jaarsma R, de Boer AH. Salinity tolerance of two potato cultivars (*Solanum tuberosum*) correlates with differences in vacuolar transport activity. *Frontiers in Plant Science*. 2018;9:737. doi: [10.3389/fpls.2018.00737](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00737)
14. Jaarsma R, de Vries RSM, de Boer AH. Effect of salt stress on growth, Na<sup>+</sup> accumulation and proline metabolism in potato (*Solanum tuberosum*) cultivars. *PLOS ONE*. 2013;8(3):e60183. doi: [10.1371/journal.pone.0060183](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060183)
15. Faried HF, Ayyub CM, Amjad M, Ahmed R. Salinity impacts ionic, physiological and biochemical attributes in potato. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*. 2016;53:17-25. doi: [10.21162/PAKJAS/16.4766](https://doi.org/10.21162/PAKJAS/16.4766)
16. Lichtenthaler HK. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. 1987;148:350-382. doi: [10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
17. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*. 1978;52:302-310. doi: [10.1016/S0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(78)52032-6)
18. Bates LS, Waldran RP, Teare ID. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*. 1973;39:205-212. doi: [10.1007/BF0001806](https://doi.org/10.1007/BF0001806)
19. Efimova MV, Manuylova AV, Malofiy MK, Kartashov AV, Kuznetsov VIV. Influence of brassinosteroids on forming protective reaction in rape seedlings under salinity. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2013;1(21):118-129. doi: [10.17223/19988591/21/9](https://doi.org/10.17223/19988591/21/9) In Russian, English Summary
20. Efimova MV, Kolomeichuk LV, Boiko EV, Malofiy MK, Vidershpan AN, Plyusnin IN, Golovatskaya IF, Murgan OK, Kuznetsov VIV. Physiological mechanisms of *Solanum tuberosum* L. plants' tolerance to chloride salinity. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2018;65(3):394-403. doi: [10.1134/S1021443718030020](https://doi.org/10.1134/S1021443718030020)
21. Li W, Li Q. Effect of environmental salt stress on plants and the molecular mechanism of salt stress tolerance. *International Journal of Environmental Sciences and Natural Resources*. 2017;7(3):1-6. doi: [10.19080/IJESNR.2017.07.555714](https://doi.org/10.19080/IJESNR.2017.07.555714)
22. Wungrampha S, Joshi R, Singla-Pareek SL, Pareek A. Photosynthesis and salinity: are these mutually exclusive? *Photosynthetica*. 2018;56(1):366-381. doi: [10.1007/s11099-017-0763-7](https://doi.org/10.1007/s11099-017-0763-7)

23. Lotfi R, Gharavi-Kouchebagh P, Khoshvaghti H. Biochemical and physiological responses of *Brassica napus* plants to humic acid and under water stress. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2015;62(4):480-486. doi: [10.7868/S0015330315040120](https://doi.org/10.7868/S0015330315040120)
24. Bose J, Rodrigo-Moreno A, Shabala S. ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance. *Journal of Experimental Botany*. 2014;65(5):1241-1257. doi: [10.1093/jxb/ert430](https://doi.org/10.1093/jxb/ert430)

*Received 25 September 2018; Revised 14 November 2018;  
Accepted 27 November 2018; Published 27 December 2018*

**Author info:**

**Danilova Elena D**, Post-graduate Student, Department of Physiology and Biotechnology, Biological Institute, Tomsk State University; Junior Researcher, Scientific and Educational Laboratory of Biotechnology and Bioengineering, Tomsk State University, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: [nusy.l.d@gmail.com](mailto:nusy.l.d@gmail.com)

**Medvedeva Yulia V**, Senior Laboratory Assistant, Department of Physiology and Biotechnology, Biological Institute, Tomsk State University, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: [souris@mail.ru](mailto:souris@mail.ru)

**Efimova Marina V**, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Department of Physiology and Biotechnology, Biological Institute, Tomsk State University, 36 Lenin Ave., Tomsk 634050, Russian Federation.

E-mail: [stevmv555@gmail.com](mailto:stevmv555@gmail.com)