

УДК 582.1

РОСТОВАЯ РЕАКЦИЯ КОРНЕЙ НА ДЕЙСТВИЕ ТЕПЛООВОГО ШОКА КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ ГЕКСАПЛОИДНОЙ ПШЕНИЦЫ

В.А. ЧИКАЛОВА, А.П. ДАСКАЛЮК

*Институт генетики и физиологии растений Академии наук Молдовы
2002-МД, Молдова, Кишинев, ул. Пэдурий, 20
e-mail: tapdap1943@gmail.com*

Показана возможность оценки теплоустойчивости гексаплоидной пшеницы на основании определения ростовой реакции корней на действие теплового шока (ТШ). Установлены критические зоны устойчивости проростков пшеницы к дозам ТШ, определяемые температурой (фактор интенсивности) и длительностью экспозиции (фактор экстенсивности). При повышении температуры ТШ энергия активации подавления роста корней увеличивалась неравномерно: зоны ее медленного и быстрого роста были четко разделены. Вследствие восстановления роста корней в период после ТШ температурные границы этих зон менялись. На основании результатов определения ростовой реакции корней на ТШ была оценена теплоустойчивость разных сортов пшеницы.

Ключевые слова: гексаплоидная пшеница, рост корней, тепловой шок, энергия активации, сорта.

В последние годы в связи с тенденцией глобального потепления климата [15] особое внимание исследователей привлекают вопросы устойчивости растений к высоким температурам. Правильная оценка теплоустойчивости растений особенно важна в сельском хозяйстве, поскольку от этого зависят рациональное использование сортов и гибридов растений, а также оптимизация методов селекции новых генотипов. В настоящее время известны ускоренные методы оценки устойчивости растений к высоким температурам. Они базируются на различных биофизических [4], физиологических [3, 5, 7, 12] и биохимических [2, 6, 13] показателях их состояния после воздействия теплового шока. Однако проблема усложняется тем, что устойчивость растений к абиотическим стрессам зависит от процессов, происходящих на разных уровнях их организации [1, 2, 12], этапа онтогенеза [2, 12] и специфики действия дозы стрессового фактора [2, 3, 14]. При действии высокой температуры доза определяется ее величиной (фактор интенсивности) и длительностью влияния (фактор экстенсивности). В условиях жары выживаемость растений зависит также от эффективности временного повышения их устойчивости (акклимации) [2, 8], репарации превреждений [8] и многочисленных механизмов избегания действия высокой температуры [12, 14]. Последние снижают экспозиционную тепловую дозу. Исходя из этого, не удивительно, что разные методы определения теплоустойчивости растений могут дать результаты, различающиеся количественно и качественно [8].

Учитывая влияние различных факторов на реакцию растений к высоким температурам, мы поставили задачу ограничить их количество, оценивая в первую очередь первичную теплоустойчивость растений [8]. Для этого сводили к минимуму возможный вклад процессов акклимации и факторов снижения действующей дозы (избегания) в реакцию растений на ТШ. Именно поэтому исследовали наклонившиеся семена различных сортов пшеницы, воспроизведенные в одинаковых условиях. Для устранения возможных межсортовых различий в восприятии экспозиционной дозы ТШ наклонившиеся семена погружали в воду при выбранных температуре и длительности экспозиции.

Методика

В исследованиях использовали семена различных сортов гексаплоидной пшеницы, воспроизведенные в 2010 г. на опытном поле Института генетики и физиологии растений АНМ. Семена предварительно замачивали в дистиллированной воде при 4 °С в течение 12 ч, обрабатывали 1 %-м раствором перманганата калия в течение 20 мин, тщательно промывали водопроводной, затем дистиллированной водой, высевали в чашки Петри на влажную фильтровальную бумагу. Контрольные и опытные проростки проращивали в темноте при 25 °С и относительной влажности воздуха 75–85 %. После первых 24 ч прорастания отбирали одинаково наклонившиеся семена и погружали их на определенное время в воду соответствующей температуры: контрольные семена — при температуре 25 °С, опытные — 37–52 °С, с интервалом 1–2 °С. Точность поддержания температуры составляла 0,1 °С. После инкубации при определенной температуре для дальнейшего роста семена помещали на поверхность блока из 1 %-го агара в дистиллированной воде (затвердевшего между двумя параллельными стеклянными пластинами) и выращивали в термостате при вышеописанных условиях. Таким образом, условия дальнейшего роста проростков были строго одинаковыми, их корни росли вертикально, без изгибов. Благодаря этому, длину растений можно было измерять по изображениям, получаемым при сканировании. О реакции растений на ТШ судили путем сравнения суммарной длины первых трех корней опытных и контрольных растений через каждые 24 ч в течение 5 сут. Для характеристики степени угнетения ростовых процессов, вызванных ТШ, и кинетики их последующего восстановления вычисляли относительную длину (ОД) корней опытных и контрольных растений в каждые из последующих 5 сут после ТШ по выражению

$$ОД_t = ДОК_t / ДКК_t,$$

где t — соответствующие сутки измерения; ДОК — длина опытных корней; ДКК — длина контрольных корней.

По полученным результатам строили кривые зависимости ОД корней от температуры и продолжительности ТШ.

На основании зависимостей ОД корней от температуры ТШ вычисляли энергию активации (A) подавления роста корней по уравнению Аррениуса [11]:

$$2,3 \lg K = (A/R)(1/T' - 1/T''),$$

где $K = (1 - ОД_t)$ при ТШ в течение 10 мин, вызванном инкубацией при определенной температуре; T' , T'' — две последовательные температуры

в интервале 37–52 °С; R — молярная постоянная; A — энергия активации по Аррениусу.

Опыты проводили в четырехкратной повторности. В каждой повторности использовали по 10 растений. Опыты повторяли не менее 3 раз (до получения воспроизводимых результатов в разных опытах). Представленные данные являются результатом определения среднего, стандартного отклонения среднего [9] и коэффициентов корреляции для уравнения линейной регрессии [9].

Результаты и обсуждение

Измеряли изменения ОД корней пшеницы сорта Одесская 267 в зависимости от температуры ТШ в различные периоды после его воздействия (рис. 1). По специфике ответной реакции корней проростков пшеницы на температуру ТШ их можно разделить на три зоны: 1) зона слабых и быстро восстанавливаемых повреждений (до 43 °С); 2) зона восстанавливаемых, но быстро усиливающихся с повышением температуры ТШ повреждений (от 43 до 48 °С включительно); 3) зона трудно восстанавливаемых повреждений (выше 48 °С). Следует заметить, что способность корней к восстановлению наиболее четко проявляется после ТШ при температу-

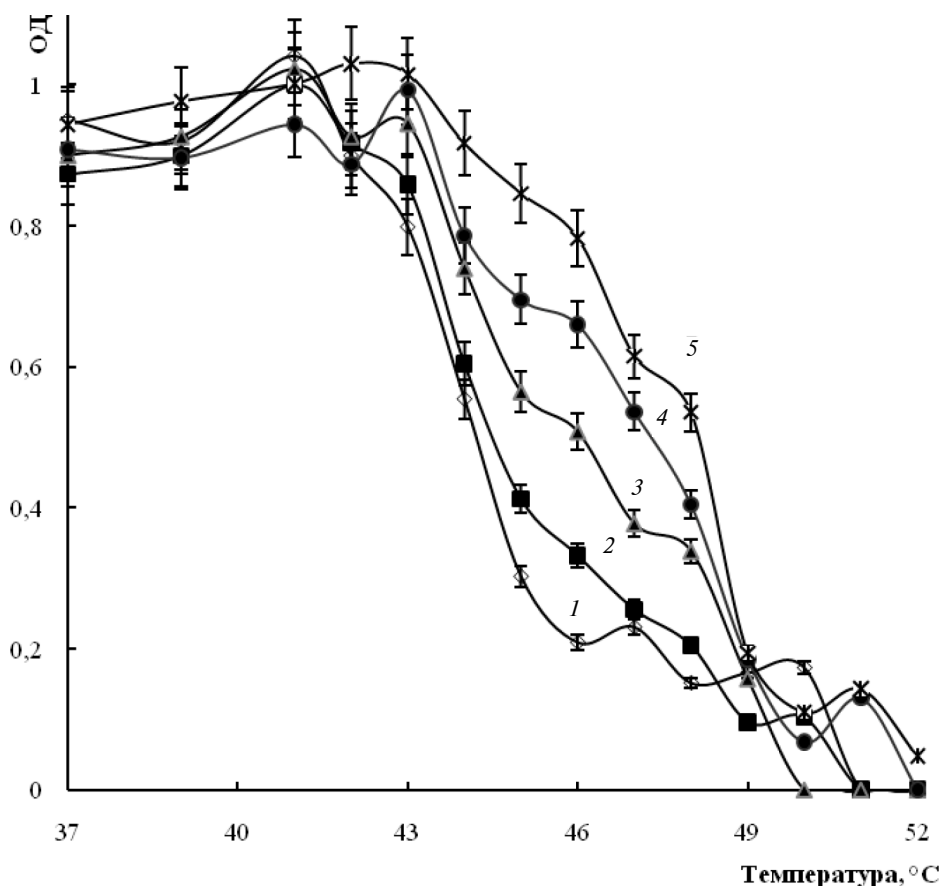


Рис. 1. Динамика относительной длины корней пшеницы сорта Одесская 267 в зависимости от температуры теплового шока в различные периоды после его воздействия. Здесь и на рис. 2:

1–5 — соответственно первые–пятые сутки

ре 46 °С. Предельная температура ТШ, после воздействия которой способность корней к восстановлению еще проявлялась, была равной 48 °С. В связи с этим интересно было выявить реакцию корней на ТШ разной продолжительности именно при указанных температурах (46 и 48 °С).

Зависимости ОД корней от продолжительности ТШ при температуре 46 и 48 °С приведены на рис. 2. С увеличением продолжительности ТШ, вызванного температурой 46 °С, ОД корней закономерно снижалась, а их восстановление происходило равномерно с удлинением периода после ТШ. Другая закономерность наблюдалась после ТШ, вызванного температурой 48 °С: продолжительность ТШ более чем на 15 мин приводила к резкому уменьшению ОД корней, а в период после воздействия ТШ их восстановление было замедленным. Эти данные до-

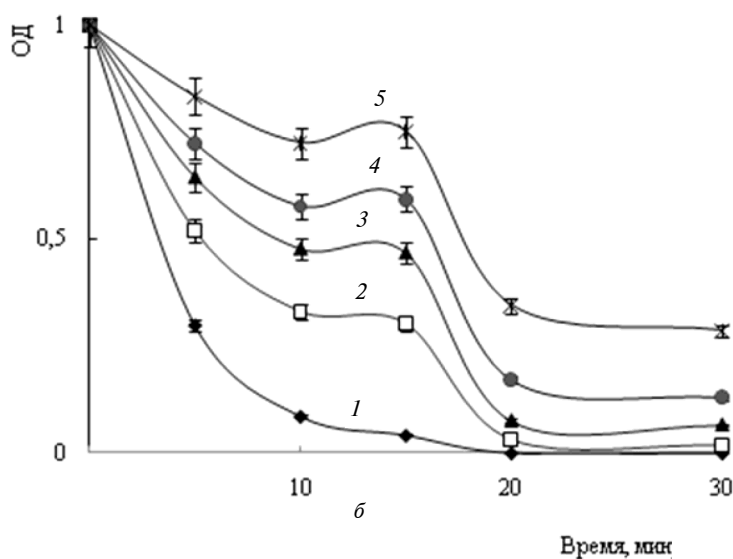
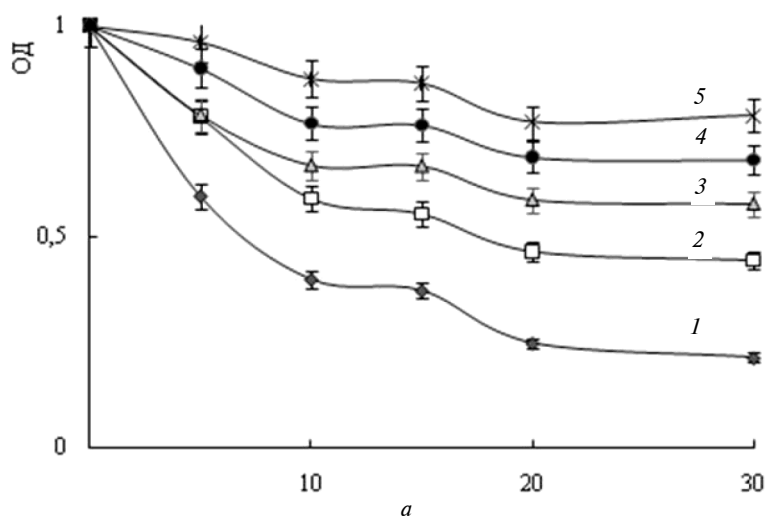


Рис. 2. Динамика относительной длины корней растений пшеницы сорта Одесская 267 в зависимости от длительности экспозиции при тепловом шоке 46 (а) и 48 °С (б) в различные периоды после его воздействия

казывают, что доза ТШ, вызванного 15-минутной экспозицией при 48 °С, является пороговой. В целом на основании приведенных на рис. 1 и 2 данных по специфике ростовой реакции корней на ТШ можно определить критические дозы ТШ, зависящие как от температуры (фактор интенсивности), так и продолжительности экспозиции (фактор экстенсивности).

Количественно явления подавления функций растений ТШ можно описать, используя уравнение Аррениуса [11]. Мы применили его для определения энергии активации A , вычисленной по замедлению роста корней пшеницы после экспозиции проростков при разных температурах ТШ. На рис. 3 приведены значения A , вычисленные на основании изменений ОД корней через 1 и 5 сут после воздействия ТШ. Как видим, этот параметр изменяется по-разному в зависимости от температуры ТШ и продолжительности периода после его воздействия. По характеру изменения A можно выделить четыре температурные зоны. В зоне I (низкие температуры ТШ) значения A практически постоянны, в зонах II и III с повышением температуры ТШ они по абсолютной величине возрастают соответственно быстро и очень быстро, в зоне IV (температура выше 46 °С в первые и выше 50 °С на пятые сутки после ТШ) значения A остаются на постоянно высоком уровне. Это связано с тем, что после ТШ, вызванного этими температурами, рост корней практически прекращается. Сравнив значения A в первые и пятые сутки после ТШ, увидим, что на пятые сутки после ТШ зона II, благодаря восстановлению роста корней, существенно расширяется за счет температур, которые в первые сутки после ТШ характеризовали III и IV зоны. В целом эти данные доказывают, что с повышением температуры ТШ степень повреждения растений возрастает, что сопровождается увеличением A . Характер изменения значений A в разных зонах дает основание считать, что глубина тепловых повреждений корней и скорость восстановления их разных зон существенно различаются: в зоне II наблюдаются процессы восстановления, тогда как температуры, характерные для зоны III, на пятые сутки после ТШ вызвали необратимые повреждения

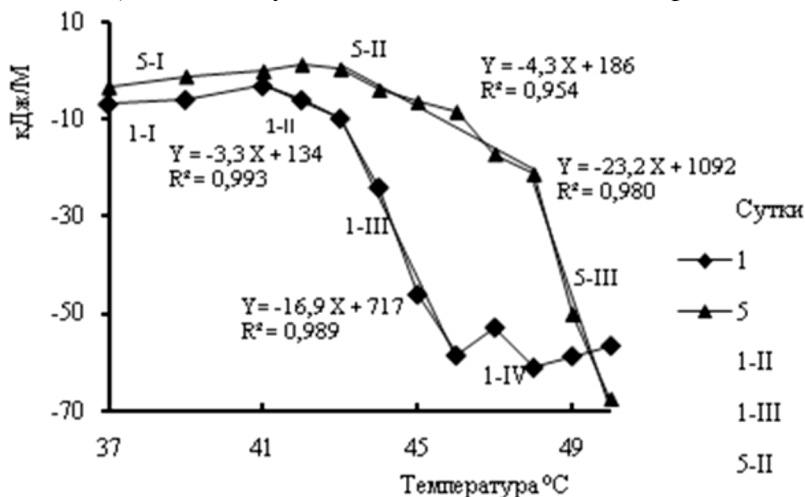


Рис. 3. Изменение энергии активации уменьшения относительной длины корней пшеницы сорта Одесская 267 в зависимости от температуры теплового шока в течение 10 мин в первые и пятые сутки после воздействия теплового шока. I—IV — зоны, характеризующиеся различными линейными зависимостями

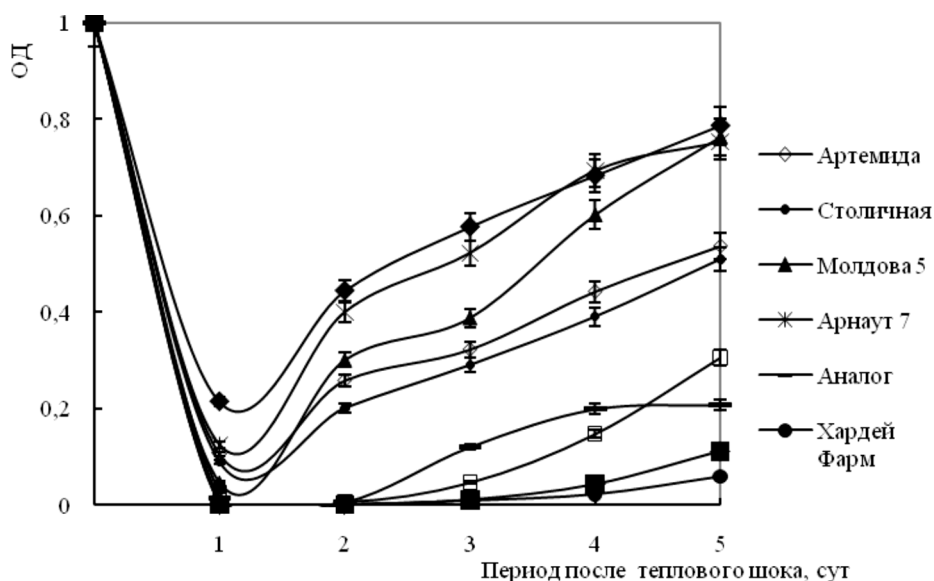


Рис. 4. Динамика относительной длины корней растений разных сортов пшеницы в зависимости от периода после теплового шока при температуре 46 °С в течение 30 мин

проростков. Очевидно в этом интервале температур ТШ процессы развития тепловых повреждений преобладают над процессами восстановления. Определенные нами максимальные значения A по абсолютной величине примерно в 1700 раз превышали значения энергии активации снижения утечки электролитов из семян сои в результате их замачивания при низких температурах [11] и, по нашим оценкам [10] — в 200 раз A утечки электролитов из листьев самшита, подвергнутых ТШ. Это указывает на существенно более широкий набор процессов, влияющих на рост растений, по сравнению с процессами, определяющими удержание электролитов.

По полученным данным можно четко определить дозы ТШ, после воздействия которых проростки еще остаются жизнеспособными, благодаря начальной устойчивости и проявлению способности к восстановлению. Интересно было выяснить, является ли реакция роста других сортов пшеницы на ТШ аналогичной реакции растений сорта Одесская 267. Рис. 4 иллюстрирует динамику значений ОД корней разных сортов пшеницы в различные периоды после ТШ. По первичной устойчивости к ТШ выделяются сорта Одесская 267 и Арнаут, промежуточными являются сорта Молдова 5, Артемиды и Столичная. Различия сохраняются в течение 5 сут после ТШ. Повышенную способность к восстановлению роста корней имеет сорт Молдова 5.

Приведенные выше данные свидетельствуют, что ростовая реакция корней пшеницы на ТШ является специфичной и зависит как от степени начального подавления роста, так и от интенсивности процессов восстановления. Полученные нами результаты подтвердили возможность использования показателей роста для исследования особенностей реакции растений пшеницы на ТШ [4] и для сравнительной оценки теплоустойчивости растений разных сортов [3]. Мы проводили опыты в условиях, ограничивающих возможный вклад процессов избегания действия стрессора и акклимации, поэтому есть основание полагать, что исследу-

емые сорта пшеницы характеризуются различной первичной теплоустойчивостью. С практической стороны перспективным для оценки устойчивости растений к высоким температурам является определение специфики ростовой реакции на ТШ, вызванной разными температурами и длительностью экспозиции. Это позволяет дифференцировать начальную реакцию растений на ТШ и специфику восстановления их роста после ТШ. Четко контролируемые и хорошо воспроизводимые условия прорастивания растений, условия воздействия ТШ, а также точность измерения динамики роста растений, дают основание полагать, что этот подход может оказаться перспективным не только для сравнительной оценки теплоустойчивости растений, но и для скрининга соединений, влияющих на устойчивость и восстановление растений, подвергнутых воздействию высоких температур.

Выражаем благодарность д-ру биол. наук П.И. Буюкли за предоставление семян пшеницы для исследования.

1. Александров В.Я., Данько К.И., Ломагин А.Г. Изменение во времени фототаксиса хлоропластов и движения цитоплазмы в растительных клетках после теплового шока // Физиология растений. — 1990. — 37, № 1. — С. 133—141.
2. Александров В.Я., Кислюк И.М. Реакция клеток на тепловой шок: физиологический аспект // Цитология. — 1994. — 3, № 1. — С. 5—59.
3. Даскалюк Т.М. Особенности ростовой реакции и белкового синтеза проростков пшеницы при тепловом стрессе: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Кишинев, 1989. — 17 с.
4. Мельник П.О., Мойса І.І., Даскалюк О.П. Визначення стійкості рослин до високих температур методом витоку електролітів // Вісн. аграрної науки. — 2006. — № 10. — С. 44—46.
5. Мусяненко Н.Н., Даскалюк Т.М., Капля А.В. Ростова реакция проростков пшеницы на действии высоких температур // Физиология растений. — 1986. — 33, № 1. — С. 134—141.
6. Олейникова Т.В., Волкова А.М., Пушина Р.М. Действие высоких температур на коферментный состав и активность изозимов пероксидазы листьев пшеницы // Физиология и биохимия культ. растений. — 1979. — 11, № 2. — С. 113—117.
7. Alexandrov V.Y. Cytophysiological and cytoecological investigations of heat resistance of plant cells toward the action of high and low temperature // Quart. Rev. Biol. — 1964. — 30. — P. 35—77.
8. Camejo D., Marti M., Nicolas E. et al. Response of superoxide dismutase isoenzymes in tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) during thermo-acclimation of the photosynthetic apparatus // Physiol. Plant. — 2007. — 131, N 3. — P. 367—377.
9. Clewer A.G., Scarisbrick D.H. Practical statistics and experimental desing for plant crop science // Chichester, New York: John Wiley & Sons, LTD, 2001. — 332 p.
10. Dascaluc A., Nemerovschii A., Costica M., Costica N. Integrative approaches in evaluation the adaptive potential of plants to heat shock temperatures // In memoriam academicianului Boris Matienco. — Chisinau, 2011. — P. 194—196.
11. Leopold A.C. Temperature effects on soybean imbibitions and leakage // Plant Physiol. — 1980. — 65, N 6. — P. 1096—1098.
12. Levitt J. Responses of plant to environmental stresses. Vol. 1. — New York: Acad. Press, 1980. — 568 p.
13. Lin C.-I., Roberts J.K., Key J.L. Acquisition of thermotolerance in soybean seedlings. Synthesis and accumulation of heat shock proteins and their cellular localisation // Plant Physiol. — 1984. — 74, N 1. — P. 152—160.
14. Quinn P. Membrane stability under thermal stress. — New York: Plenum Publ., 1989. — P. 511—515.
15. Schneider S.H. The greenhouse effect: Science and policy // Science. — 1989. — 243. — P. 771—781.

Получено 23.05.2012

РОСТОВА РЕАКЦІЯ КОРЕНІВ НА ДІЮ ТЕПЛООВОГО ШОКУ ЯК ПОКАЗНИК
ТЕПЛОСТІЙКОСТІ ГЕКСАПЛОЇДНОЇ ПШЕНИЦІ

В.А. Чикалова, О.П. Даскалюк

Інститут генетики і фізіології рослин Академії наук Молдови, Кишинів

Показано можливість оцінювання теплостійкості гексаплоїдної пшениці на підставі визначення ростової реакції коренів на дію теплового шоку (ТШ). Встановлено критичні зони стійкості проростків пшениці до доз ТШ, що визначаються температурою (фактор інтенсивності) і тривалістю експозиції (фактор екстенсивності). З підвищенням температури ТШ енергія активації пригнічення росту коренів збільшувалась нерівномірно: зони її повільного і швидкого росту були чітко розділені. Внаслідок відновлення росту коренів у період після ТШ температурні межі цих зон змінювались. На підставі результатів визначення ростової реакції коренів на ТШ було оцінено теплостійкість різних сортів пшениці.

THE HEXAPLOID WHEAT ROOTS GROWTH RESPONSE TO HEAT SHOCK AS
INDICATOR OF THERMOTOLERANCE

V.A. Cicalova, A.P. Dascaluic

Institute of Genetics and Plant Physiology, Moldovan Academy of Sciences
2002-MD, 20 Padurii St., Chisinau, Moldova

The thermotolerance of hexaploid wheat was evaluated based on determination of roots growth suppression under the action of heat shock (HS). The critical zones of wheat seedlings resistance to doses of HS determined by temperature (factor of intensity) and duration of exposure (factor of extensiveness), were estimated. The activation energy of roots growth suppression was increased in a non-linear way with the temperatures of HS: clearly separable zones of their slow and fast growth were observed. Due to recovery of roots growth, the temperatures that limited mentioned zones were changed with increasing period after HS. The thermotolerance of different wheat varieties was estimated based on the results of the assessment of roots growth responses to HS.

Key words: hexaploid wheat, root growth, heat shock, activation energy, varieties.