

## ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ФЛУОРИМЕТРИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПЕРВИЧНОЙ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ ФЛАГОВЫХ ЛИСТЬЕВ ГЕКСАПЛОИДНОЙ ПШЕНИЦЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕПЛОВОГО ШОКА.

Платовский Николай, Здиорук Нина, Раля Тудор

*Институт Генетики, Физиологии и Защиты Растений*

### Rezumat

În baza aprecierii activității fotosistemului 2 (FS-2) a frunzelor standard de grâu comun expuse acțiunii temperaturilor șocului termic (ȘT), a fost apreciată rezistența soiului de grâu hexaploid la acțiunea temperaturilor extreme. Au fost stabilite zonele critice a rezistenței FS-2 a frunzelor standard de grâu la acțiunea diferitor doze a ȘT (factor intensiv) și durata expunerii (factor extensiv). S-a constatat, că odată cu creșterea temperaturii ȘT, activitatea FS-2 scade. A fost evaluată posibilitatea aplicării acestei metode privind determinarea prealabilă a rezistenței genotipurilor grâului comun de toamnă la acțiunea temperaturilor extreme pozitive.

*Cuvinte cheie:* grâu comun de toamnă *Triticum aestivum* L., fotosistemul 2, șocul termic, frunza standard.

*Depus la redacție* 02 decembrie 2020

---

*Adresa pentru corespondență:* Platovschii Nicolai, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, str. Pădurii, 20, MD-2002 Chișinău, Republica Moldova;  
e-mail: [Nik.Plat@hotmail.com](mailto:Nik.Plat@hotmail.com)

### Введение

Необходимость увеличения производства продовольственной продукции в настоящее время вызвана целым рядом причин. Одной из них можно считать постоянное увеличение численности народонаселения Земли, которая в начале XXI ст. уже достигла 7 млрд. а, по оценкам социологов, к 2050 г. — превысит 9 млрд. [15]. По мимо этого с повышением спроса на продовольствие в развитых странах мира, растет также и количество людей, употребляющих только растительную продукцию. В то же время, производство зерна, составляющего основу пищевого рациона около 1,5 млрд людей, увеличивается меньшими темпами, чем численность населения. Так, за последние 20 лет среднемировое производство зерна увеличилось на 24 %, а население — в среднем на 33 %.

Например, предполагается, что только прирост населения в Африке, увеличится предположительно на 60% [11]. По прогнозам, сделанным в начале этого столетия, при таких темпах роста народонаселения планеты для обеспечения привычного уровня потребления продуктов урожайность зерновых сельскохозяйственных культур необходимо удвоить [11,5]. По оценкам ФАО, сделанным в конце 2010 г, для удовлетворения базовых продовольственных проблем человечества в ближайшие 10 лет необходимо повысить урожайность пшеницы более чем на 5 ц/га ежегодно [3]. На фоне всего этого ситуация усугубляется отсутствием новых площадей для пахотных земель и стремительным изменением климата.

При этом наиболее опасным фактором можно считать постоянное повышение температуры окружающей среды, что приводит к увеличению засушливого периода»[13].

Следует отметить, что засуха сама по себе является сложным интегральным стрессовым фактором, и наиболее сильным стрессовым фактором, лимитирующим продуктивность пшеницы во многих регионах ее возделывания. В связи с чем, селекция пшеницы и других зерновых культур в основном направлена на создание новых сортов пшеницы с высоким уровнем адаптации, включающим морфологические, физиологические и биохимические изменения. Благодаря этому растения меньше страдают от жары и засухи за счет проявления как механизмов избегания действия стрессового фактора, так и изменения процессов метаболизма и восстановления повреждений [8,6]. В основном физиологическое состояние и продуктивность растений определяется функциональным состоянием фотосинтетического аппарата. Именно поэтому селекция и агротехнические приемы, используемые для повышения урожайности зерновых культур, в частности пшеницы, часто основываются на анализе активности процессов фотосинтеза [1,7]. Поскольку фотосинтез обеспечивает жизнедеятельность растений на разных этапах онтогенеза за счет образования и накопление биомассы растений, усиленное внимание уделяется изучению роли признаков, связанных с функционированием фотосинтетического аппарата (ФА). ФА характеризуется весьма чувствительным механизмом на действие не только внешних, но и внутренних раздражителей, и представляет собой весьма удобный показатель для оценки воздействия внешних факторов на растительный организм. Но, в связи с возможностью влияния различных факторов на реакцию растений к высоким температурам, необходимо ограничить их количество, оценивая только первичную теплоустойчивость растений [14]. Для достижения поставленной задачи необходимо свести к минимуму вклад побочных процессов в реакцию растений на тепловой шок (ТШ). Поэтому, в наших исследованиях применялись листья, собранные в одинаковых условиях. Как известно, фотосинтез проявляет наибольшую чувствительность к действию высокой температуры [10], что и легло в цель настоящего исследования по разработке метода изучения функционирования фотосистемы 2 (ФС-2) при действии термического шока различных температур на флаговые листья растений пшеницы с возможностью выявления первичной теплоустойчивости.

#### Материалы и методы

Материалом для исследования послужили флаговые листья растений мягкой озимой пшеницы сорта Молдова 5 (*Triticum aestivum* L.), выращенные на

опытном поле Института Генетики, Физиологии и Защиты Растений. Отбирались листья растений первого порядка в фазе начала цветения.

Предварительные исследования, проводимые нами, показали, что данная фаза развития растений характеризуется как самая восприимчивая фаза к действию абиотических факторов внешней среды. Для искусственного моделирования воздействия высоких температур на растения, отобранные флаговые листья помещались в водяной ультратермостат U-10 (Польша) на 5 мин, запрограммированный на температуры в пределах от  $+39^{\circ}\text{C}$  до  $+53^{\circ}\text{C}$  с шагом изменения температуры на  $+1^{\circ}\text{C}$ . Используемый метод воздействия температур на листья растений позволяет получить равномерное распределение температурного фактора на всю площадь листа.

Действие температурного шока на растения пшеницы определяли методом РАМ-флуориметрии с использованием флуориметра РАМ-2100 (Walz, Германия) и оценивали изменение активности ФС-2 по показателю Yield, который определяли непосредственно после воздействия температурного шока и через 24, 48, 72 и 96 часов после его действия.

Исследования проводились в трехкратной повторности на 10-ти испытуемых растениях для каждого варианта. Математический анализ результатов проводился согласно методике полевого опыта [12].

### Результаты и обсуждения

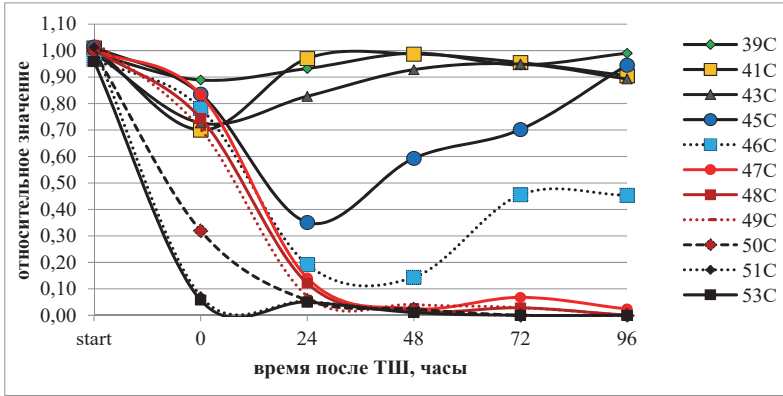
Воздействие теплового шока в течение 5 мин. на флаговые листья пшеницы приводит к незамедлительной реакции ФА листа. Из представленных результатов (Граф.1) следует, что глубина индуцированных повреждений ФС-2 зависит от значения ТШ и времени выдерживания листьев в воде. На основании ответных реакций по спектру повреждения температуры можно разделить на 3 зоны: 1) летальные (ТШ в пределах  $+47 - +53^{\circ}\text{C}$ ), 2) повреждения частично или полностью восстанавливаемые растением (ТШ в пределах  $+43 - +46^{\circ}\text{C}$ ) и 3) повреждения, которые не влияют на работу ФС-2 (ТШ в пределах  $+30 - +42^{\circ}\text{C}$ ) [14].

Из представленного графика (Граф.1) видно, что уже через 24 часа после действия ТШ заметна разница, возникшая при действии различных температур на ФА. Что позволяет выделить температуру, вызывающую летальную дозу 50 (ЛД50) для растений. Полученные результаты показывают, что для листьев пшеницы сорта Молдова 5 такой температурой является температура  $+45^{\circ}\text{C}$ .

При этой температуре активность ФС-2 резко угнетается только на 24 часах после шока, но по прошествии 48 часов после действия ТШ начинают запускаться восстановительные процессы, при помощи которых через 96 часов после ТШ постепенно происходит восстановление активности ФС-2 до начального уровня. Действие же температуры всего на градус выше,  $+46^{\circ}\text{C}$ , оказывает более жесткое угнетение ФА только после 24 часов после действия ТШ и, как видно из Граф.1, начало восстановления ФС-2 наблюдается лишь на 48 часах после действия ТШ. На 72 часах после ТШ  $+46^{\circ}\text{C}$  происходит резкое восстановление работы ФС-2 до 0,460 yield, однако дальнейшее ее возрастание с такими же темпами не происходит и на 96 часах после действия ТШ выходит на плато.

Следовательно, температура  $+46^{\circ}\text{C}$  с экспозицией времени 5 минут относится к ЛД70 при которой, происходит существенное угнетение фотосинтетического

аппарата листовой пластинки и, следовательно, всего растительного организма. Стоит заметить, что при действии данной температуры, растения имеют шансы на восстановление только за счет своих внутренних источников энергии и только при условии полного отсутствия дальнейшего влияния стрессора на растительный организм.



**Граф. 1.** Относительная активность ФС-2 флаговых листьев растений пшеницы сорта Молдова 5, подвергнутых тепловому шоку разными температурами, в течении 5 минут, к активности ФС-2 контрольных листьев в различные периоды после воздействия теплового шока.

После действия ТШ  $+47^{\circ}\text{C}$  и выше наступают необратимые повреждения листовой поверхности растительного организма, поэтому активность ФС-2 падает до нулевого значения и в дальнейшем она не проявляет признаков восстановления. Действие температур до  $+43^{\circ}\text{C}$  приводит к незначительному снижению (до 0,700 yield) активности ФС-2 сразу после шока. На 24 часах после действия ТШ восстановление активности ФС-2 достигает значений единицы и в дальнейшем снижение активности ФС-2 не происходит. При действии температур экспозицией времени 5 мин. от  $+51^{\circ}\text{C}$  наступают необратимые изменения в функционировании листового аппарата растений, в результате чего флаговый лист умирает сразу после действия шока. Данная закономерность вполне очевидна и объяснима тем, что белковые соединения при таких температурах теряют свою форму, коагулируют. Весь ФА основан на белковой структуре и, следовательно, сразу после ТШ он отражает реальную картину повреждений, хотя зрительно листья выглядят, как и все остальные, процессы деструкции в них наступают через 24 часа после ТШ.

Необходимо отметить, что снижение кривых до минимума начинает проявляться у вариантов, подвергнутых от  $+45^{\circ}\text{C}$  и выше ТШ. В зависимости от температуры ТШ кривые активности ФС-2 после достижения минимума проявляют различные тенденции возрастания (восстановления). Быстрое восстановление активности ФС-2 после ТШ наблюдается при  $+45^{\circ}\text{C}$ , медленное при  $+46^{\circ}\text{C}$ . Данные температуры способны вызвать сильнейшие торможения в работе ФС-2, что в конечном итоге может отразиться на продуктивности растений, и как результат, снижение урожайности.

Возвращаясь к вопросу о ведении селекции в сторону выведения генотипов пшеницы с высокой стойкостью ФА к действию высоких температур, необходимо превысить порог ЛД50, тем самым улучшить работу ФС-2 и устойчивость ФА к действию ТШ. Смещение порога ЛД50 на 1°C в сторону повышения температуры создает сравнительные условия работы ФА при действии засухи. Полученные результаты дают возможность использовать метод замедленной РАМ-флуориметрии для оценки сортов пшеницы по уровню устойчивости к засухе с целью их отбора и определения наиболее оптимальных районов их посева что, в конечном итоге, увеличит урожайность в условиях повышенных температур.

### Выводы

1. Действие ТШ температурами до +43°C с экспозицией времени 5 минут, не приводит к существенным изменениям в работе ФС-2 и после их воздействия ФА полностью и в кратчайшие сроки восстанавливается до начального состояния. Это говорит о том, что если данный стресс возникнет в реальных условиях, то он не вызовет сильных изменений в работе ФА, а значит, и не снизит в сильной мере урожайность растений пшеницы сорта Молдова 5.

2. Температура +45°C является переходной температурой, при которой ФА растений пшеницы, в частности, сорта Молдова 5, испытывает сильное угнетение. Однако способен восстановить свою функциональность до начального периода времени лишь на 96 часов после действия ТШ, что в реальных условиях может значительно снизить урожайность, хотя при этом растительный организм способен выжить.

3. Температуры +50°C и выше являются губительными для ФА растений пшеницы и приводят к их летальному исходу.

4. Благодаря изучению ответных реакций растительного организма на действие ТШ с использованием метода РАМ-флуориметрии, возможно на ранних сроках смоделировать различного рода стресс факторы и дать ответ об их влиянии на ФА.

5. Это, в свою очередь, дает возможность выявлять слабо стойкие генотипы пшеницы к действию повышенных температур, а также проводить целенаправленные работы по выведению современных генотипов, устойчивых к большому спектру неблагоприятных факторов среды.

### Список литературы

1. Anderson J.M., Chow W.S., Park Y.I. The Grand Design of Photosynthesis: Acclimation of the Photosynthetic Apparatus to Environmental Cues // *Photosynth. Res.* 1995. V. 46. P. 129-139
2. Demmig-Adams B., Adams W.W. Photoprotection and Other Responses of Plants to High Light Stress // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1992. V. 43. P. 599-626.
3. FAO statistical databases. Food and Agriculture Organization of United Nations. — Rome, Italy. — 2009: [http // www.fao.org](http://www.fao.org)
4. Georgieva K., Lichtenthaler H.K. Photosynthetic Activity and Acclimation Ability of Pea Plants to Low and High Temperature Treatment as Studied by Means of Chlorophyll Fluorescence // *J. Plant Physiol.* 1999. V. 155. P. 416-423
5. Hawkesford M.J., Araus J.-L., Park R. et al. Prospect of doubling global wheat yields // *Food Energy Security.* — 2013. — 2(1). — P. 34—48.
6. Levitt J. Responses of plant to environmental stresses. Vol. 1. — New York: Acad. Press, 1980/ - 568 p.

7. *Lichtenthaler H.K.* Biosynthesis, Accumulation and Emission of Carotenoids, -- Tocopherol, Plastoquinone and Isoprene in Leaves under High Photosynthetic Irradiance // *Photosynth. Res.* 2007. V. 92. P. 163-179.

8. *Price A.H., Cairns J.E., Horton P., Jones H.G., Griffiths H.* Linking Drought-Resistance Mechanisms to Drought Avoidance in Upland Rice Using a QTL Approach: Progress and New Opportunities to Integrate Stomatal and Mesophyll Responses // *J. Exp. Bot.* 2002. V. 53. P. 989-1004.

9. *Smil V.* Feeding the world: a challenge for the 21-st century // Cambridge: MIT Press, 2000. — 392 p.

10. *Бухов Н.Г., Джибладзе Т.Г.* Влияние повышенных температур на фотосинтетическую активность у интактных листьев ячменя при низких и высоких освещенностях // *Физиология растений.* 2002. Т. 49. С. 371-375.

11. *Гаврилюк М.М.* Хліб із пшениць Київщини//Насінництво. – 2012. -№6. – С.1-7.

12. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) – 5-е изд. доп. И перераб. – М.: Агропромиздат, 1985 с.351

13. *Моргун В.В., Прядкина Г.А.* //Эффективность фотосинтеза и перспективы повышения продуктивности озимой пшеницы. //Физиология растений и генетика. 2014. Т. 46. № 4.С. 279-301

14. *Чикалова В.А., Даскалюк А.П.* Ростовая реакция корней на действие теплового шока как показатель теплоустойчивости гексаплоидной пшеницы. Физиология и биохимия культ. Растений. 2013. Т. 45. № 1

15. [www.un.org/ru/development/serveys/docs.population2011.pdf](http://www.un.org/ru/development/serveys/docs.population2011.pdf)

Работа была выполнена в рамках проекта: **20.80009.7007.07**, „*Determinarea parametrilor ce caracterizează rezistența plantelor cu nivel diferit de organizare la acțiunea temperaturilor extreme în scopul diminuării efectelor schimbărilor climatice*”