

MANIFESTAREA CREȘTERII RELATIVE A RĂDĂCINILOR ÎN TERMOTOLERANȚA GRÂULUI (*TRITICUM AESTIVUM* L.) SUB INFLUENȚA OCULUI TERMIC

Dascaluic A., Cicalova V., Ralea T.

Institutul de Genetică și Fiziologie a Plantelor al Academiei de Științe a Moldovei

Rezumat

A fost determinată creșterea relativă a rădăcinilor plantulelor de grâu după aplicarea diferitor doze ale ocului termic (T) îndată după inițierea germinației semințelor. În baza parametrilor de creștere, dozele T au fost divizate în patru zone diferite. Aceste zone corespund specificului reacției de inhibare și restabilire a creșterii în perioada după aplicarea T . Reacția de suprimare a creșterii rădăcinilor poate fi caracterizată cantitativ prin *energia de activare* (A) conform ecuației lui Arrhenius. Valorile A sporesc în mod specific odată cu creșterea temperaturii T . Determinarea dinamicii creșterii relative a rădăcinilor după aplicarea T cu doze critice reprezintă un interes deosebit, datorită faptului că distribuția valorilor creșterii relative corelează cu termotoleranța genotipului. Parametrii dozelor critice, necesari pentru aprecierea termotoleranței genotipurilor de grâu, pot fi apreciați doar după analiza reacției plantulelor la aplicarea dozelor T determinate atât de temperatură (*factorul intensiv*), cât și de durata expoziției (*factorul extensiv*).

Cuvinte cheie: grâu hexaploid – soiuri - creșterea relativă - șocul termic - energia de activare - termotoleranța.

Depus la redacție 29 octombrie 2012

Adresa pentru corespondență: Dascaluic Alexandru, Institutul de Genetică și Fiziologie a Plantelor al Academiei de Științe a Moldovei, str. pădurii, 20, MD-2002 Chișinău, Republica Moldova, e-mail:dascaluica@yahoo.com, tel. (+373 22)53-01-77.

Introducere

În ultimii ani, ca urmare a tendinței de încălzire globală a climei [6], se manifestă o atenție deosebită rezistenței plantelor față de temperaturi ridicate. Evaluarea corectă a rezistenței termice a plantelor este deosebit de importantă în agricultură. De cunoașterea nivelului ei depinde utilizarea rațională a soiurilor și hibrizilor, precum și optimizarea metodelor de selectare a unor soiuri noi. În prezent, există mai multe metode de evaluare accelerată a rezistenței plantelor la temperaturi ridicate. Acestea se bazează pe diverse metode biofizice [15], fiziologice [1, 6, 12,13] și biochimice [7, 12, 14] de apreciere a stării plantelor după expunerea lor la doze variate ale ocului termic (T). Cu toate acestea, mai multe probleme rămân nesoluționate din cauza complexității proceselor implicate. Rezistența plantelor față de stresul termic depinde de procese care au loc la diferite niveluri de organizare [6, 10,11], etape ale ontogenezei [3, 10] plantelor, precum și de caracteristicile fizice ale factorului de stres [8, 10, 12]. De exemplu, influența temperaturilor ridicate este specific determinată de valoarea temperaturii (*factorul de intensitate*) și durata expoziției (*factorul extensiv*). Supraviețuirea plantelor în condiții de arșiță depinde de rezistența inițială (*rezistența de bază*), creșterea temporară a rezistenței (*acclimare*) [2, 10], repararea deteriorărilor [2], precum și de existența a mai

multor mecanisme de evitare (*diminuare*) a dozei de expoziție la temperaturi ridicate [6, 8]. Ultimele includ structuri morfologice și reacții fiziologice, care asigură diminuarea dozei de expunere la arșiță. Cele menționate dau posibilitatea de a lămuri cauzele divergențelor dintre rezultatele aprecierii termotoleranței plantelor, determinate cu utilizarea diferitor metode [2].

Având în vedere impactul mai multor factori asupra răspunsului plantelor la temperaturi ridicate, în cercetările realizate a fost trasat obiectivul de a minimiza influența majorității lor, având ca scop doar estimarea *rezisten ei primare* și a *capacității de recuperare* a plantelor după expoziția la temperaturi ridicate [2]. Pentru a minimiza contribuția posibilă a factorilor de aclimatare și evitare a acțiunii (*diminuare a dozei efective*) T , în cercetare au fost luate plantulele de grâu îndată după germinare, iar expunerea la T a fost efectuată prin scufundarea semințelor germinate în apă la temperatura și durata de expoziție dorită. În așa fel a fost evitată influența posibilă asupra termotoleranței a condițiilor diferite de creștere după germinare și a proceselor de aclimatare (datorită perioadei relativ scurte de expunere la T).

Materiale i metode

Materialul vegetal. În cercetări au fost folosite semințele diferitor soiuri de grâu hexaploid, reproduse în anul 2010 pe câmpul experimental al Institutului de Genetică și Fiziologie a Plantelor al AȘM. Înainte de germinare, pentru a asigura umectarea uniformă a semințelor, ele au fost imersate în apă distilată la 4°C pe parcursul a 12 ore, tratate cu soluție de 1% de permanganat de potasiu timp de 20 min, bine spălate cu apă de robinet, apoi cu apă distilată; semănate în cutii Petri pe hârtie de filtru umedă. Pentru inițierea germinării cutiile cu semințe au fost incubate în întuneric, la 25°C și umiditatea relativă de 75-85%. După primele 24 ore de incubare, semințele uniform germinate au fost selectate și repartizate în diferite variante, apoi scufundate în apă cu temperatura corespunzătoare pe parcursul duratei stabilite: semințele varianta martor la 25°C, iar variantele experimentale la temperaturi ale T între 37 și 52°C, peste 1-2°C. Acuratețea menținerii temperaturii T era de $\pm 0,1^\circ\text{C}$. După incubare la temperatura și durata stabilită, pentru a asigura creșterea în condiții identice, semințele germinate au fost introduse pe suprafața unui bloc de 1% agar-agar solubilizat în apă distilată (format între două plăci de sticlă paralele) și cultivate într-un incubator în condițiile descrise mai sus. Astfel, condițiile de creștere a plantulelor erau strict identice, creșterea rădăcinilor fiind orientată în spațiu bidimensional (în înălțime și lățime). Datorită la aceasta, a fost posibilă determinarea exactă a lungimii rădăcinilor măsurând imaginile realizate zilnic prin scanare. Răspunsul plantelor la T a fost determinat prin compararea lungimii totale ale primelor trei rădăcini la plantele experimentale și martor la fiecare 24 ore, pe parcursul a 5 zile. Pentru a caracteriza gradul de inhibare inițială a proceselor de creștere, cauzată de T , și a cineticii de recuperare ulterioară a creșterii, a fost determinată creșterea relativă (CR), calculată din raportul dintre valoarea creșterii zilnice a lungimii rădăcinilor plantelor experimentale (CRE) către cea a rădăcinilor plantelor martor (CRM):

$$CR = CRE/CRM \quad (1)$$

În baza rezultatelor obținute, pentru fiecare temperatură a T , a fost construit graficul dependenței CR de ziua care a trecut după aplicarea T . În dependență de

valorile CR, determinate în fiecare zi după aplicarea T cu diferite temperaturi, a fost calculată *energia de activare* (A) a proceselor de inhibare a creșterii în conformitate cu ecuația Arrhenius [5]:

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

unde $K = (1 - CR)$ cauzate de incubarea pe parcursul a 10 minute la temperatura dată a T ; T' și T'' - două temperaturi consecutive ale T în intervalul între 310 - 340°K (37 și 52°C); R - constanta gazelor, A - *energia de activare* după Arrhenius.

Analiza statistic a datelor. Experimentele au fost efectuate în patru repetiții. În fiecare repetiție au fost utilizate 10 plante. Fiecare experiment a fost repetat de cel puțin trei ori (pentru a obține rezultate reproductibile în diferite experimente). Datele prezentate sunt rezultatul de determinare a mediei și abaterii standard a mediei [15, p. 9] și a coeficientului de corelație și de regresie liniară [15, p.63].

Rezultate i discu ii

Pe figura 1 sunt prezentate curbele CR a rădăcinilor grâului Odessa 267 expuse T pe parcursul a 10 minute cu diferite temperaturi, în funcție de ziua care a trecut după aplicarea lui. Specificul dinamicii CR a rădăcinilor în perioada după T dă posibilitatea de a repartiza temperaturile T în trei zone. Valorile CR a rădăcinilor plantelor supuse T cu temperaturile caracteristice pentru *prima zonă* în ziua întâia după aplicarea T nu scad mai jos de 0,8 și se restabilesc complet pe parcursul a 5 zile. Această zonă se răspândește până la temperatura 43°C. În *zona a doua* valoarea inițială a CR (în ziua întâia după aplicarea T) a rădăcinilor se află între 0,2 - 0,8. Ulterior valorile CR cresc, dar cu viteză cu atât mai joasă, cu cât mai înaltă a fost temperatura T . Această zonă include temperaturile dintre 43 și 48°C inclusiv. T cu temperaturile din *zona a treia* (mai înalte de 48°C) se manifestă prin aceea că CR a rădăcinilor nu se restabilește semnificativ pe parcursul a 5 zile după aplicarea lor. Chiar și în interiorul acestei zone observăm că recuperarea era cu atât mai lentă, cu cât temperatura T era mai înaltă.

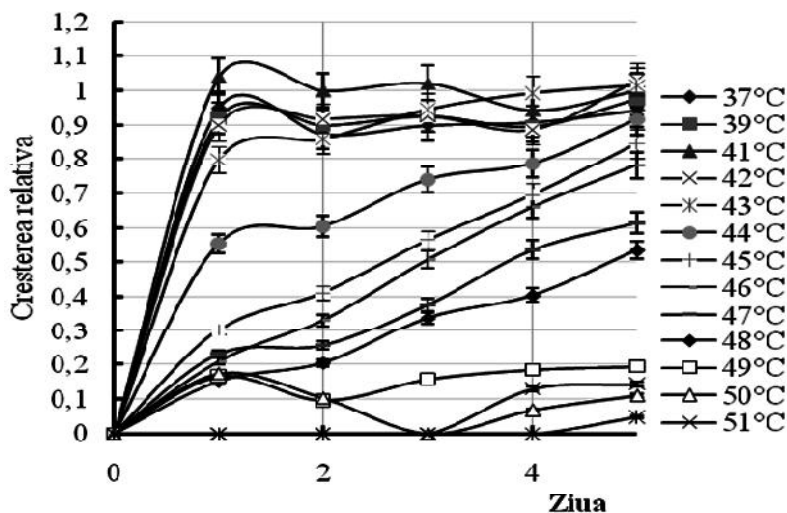


Figura 1. Creșterea zilnic relativă a lungimii rădăcinilor plantulelor de grâu Odessa 267 în dependență de ziua după aplicarea oculară termică.

Temperatura limită a T , după aplicarea căreia se remarcă restabilirea semnificativă a CR rădăcinilor era egală cu 48°C . După T cu 46°C gradul de recuperare creștea liniar odată cu creșterea perioadei care a trecut după T . În legătură cu aceasta, era important de a identifica reacția de creștere a rădăcinilor după perioade diferite de aplicare a T cu aceste temperaturi. Pe figura 2 este prezentată dependența valorilor CR a rădăcinilor de durata T cu 46°C (fig. 2a) și 48°C (fig. 2b) la perioade diferite după aplicarea T . Putem observa că, odată cu creșterea duratei T , indus prin expunerea la 46°C , CR a rădăcinilor scade, iar recuperarea lor a fost uniformă odată cu creșterea perioadei care a trecut după T . Aceasta sugerează că nivelul deteriorărilor provocate de T prin expunerea la această temperatură este cu atât mai semnificativ, cu cât durata de expoziție era mai mare. Aceste deteriorări erau recuperabile după toate perioadele de expunere (până la 30 minute) la T cu 46°C . Alte legități au fost observate după T indus cu temperatura de 48°C : prelungirea duratei T mai mult de 15 minute a dus la o scădere bruscă a CR a rădăcinilor, iar restabilirea valorilor CR după aplicarea T pe parcursul a mai mult de 15 minute a fost foarte lentă. Aceste date indică faptul că doza T aplicată pe parcursul a 15 minute cu 48°C reprezintă un prag, după care creșterea perioadei de expoziție duce la amplificarea acumulării deteriorărilor și la diminuarea vitezei de recuperare a lor. În general, datele prezentate în figurile 1 și 2 sugerează că specificitatea creșterii rădăcinilor după T cu diferite temperaturi și durate de expoziție dau posibilitate de a aprecia pragurile de toleranță în dependență de durata și temperatura T . Valorile dozelor după aplicarea cărora se manifestă aceste praguri sunt determinate atât de temperatura (*factorul de intensitate*), cât și de durata (*factorul extensiv*) T . Exemplele prezentate pe figurile 1 și 2 dau posibilitatea de a menționa că pentru rădăcinile plantulelor de grâu Odessa 267 pragul temperaturilor tolerate după expunerea la T este 48°C pe parcursul a 15 minute. Temperaturile T mai înalte de 48°C duc la diminuarea practic ireversibilă a creșterii rădăcinilor (fig. 1).

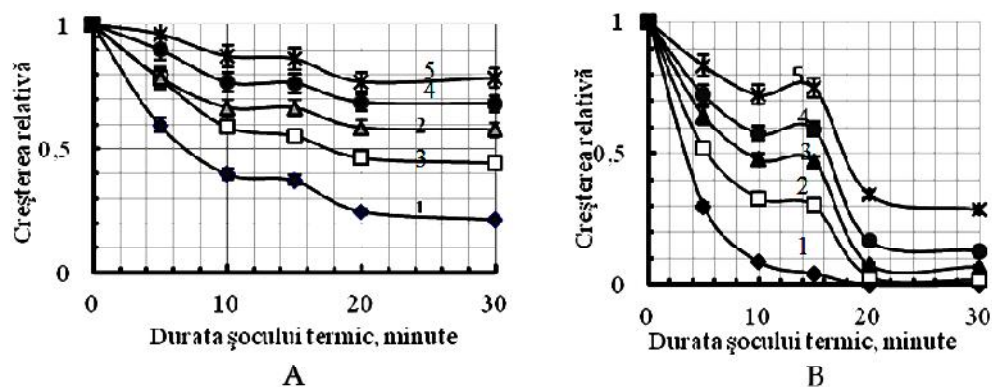


Figura 2. Dinamica creșterii relative a rădăcinilor grâului Odessa 262 în dependență de durata șocului termic cu 46°C (a) și 48°C (b) la perioade diferite după aplicarea lui: 1 - 5 - respectiv ziua întâia și a cincea.

Concluzii mai generale despre specificul influenței T provocat cu diferite temperaturi și durate de expoziție pot fi trasate analizând influența T asupra energiei de activare (A). Pe figura 3 sunt prezentate A , calculate în baza valorilor CR a rădăcinilor în ziua 1 și a 5 după aplicarea T pe parcursul a 10 minute, în dependență de temperatură

(exprimată în grade Kelvin). Datele obținute, după influența asupra valorilor A , dau posibilitatea de a separa temperaturile T în patru zone. În interiorul fiecărei zone odată cu creșterea temperaturii și duratei T legițile schimbării valorilor A sunt diferite. În zona I (temperaturi relativ scăzute ale T) valorile A ale proceselor de frânare a CR a rădăcinilor sunt practic constante și se mențin la nivelul circa -1000 cal/M. În zonele II și III valorile absolute ale A cresc respectiv iute și foarte iute odată cu creșterea temperaturii T . Despre aceasta indică valorile coeficienților de proporționalitate din formulele care descriu dependența valorilor A de temperatura T : pentru ziua întâia și a cincea valorile acestui coeficient sunt respectiv egale cu $799,4$ și $1027,7$ cal $^{\circ}$ K/M (zona II) și $4040,7$ și 5558 cal K/M (zona III).. În zona a IV, zona temperaturilor T care depășesc 319° K (în prima zi) și 323° K (în ziua a cincea), valorile absolute ale A rămân la un nivel foarte înalt (ele depășesc 14000 cal/M). Aceasta se datorează faptului că după T cu aceste temperaturi (specifice pentru ziua întâia și a cincea!), creșterea rădăcinilor practic se oprește.

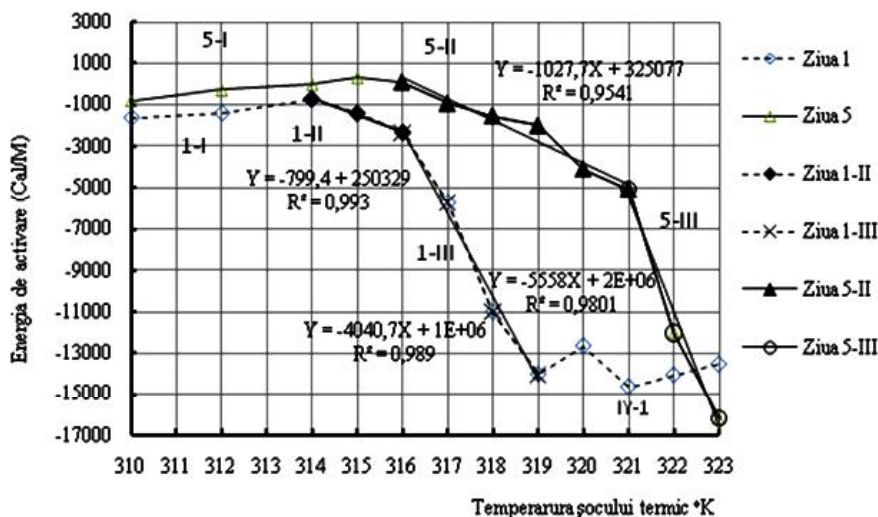


Figura 3. Dinamica energiei de activare a diminuării creșterii relative a rădăcinilor grâului Odessa 267 în dependență de temperatura șocului termic pe parcursul a 10 minute. Sunt prezentate datele determinării energiei de activare în ziua întâia și a cincea. Indicii I - IV - zonele cu dependență lineară diferită.

Comparând valorile A în prima și a cincea zi după aplicarea T , putem observa că în ziua a cincea, diapazonul zonei II devine mai larg. Aceasta se datorează fenomenelor de recuperare a creșterii după T cu temperaturi care în ziua întâia cauzează diminuarea semnificativă a creșterii rădăcinilor. În general, aceste date dau posibilitatea de a menționa că cu creșterea temperaturii T valorile parametrului A (deci și a gradului de deteriorare) cresc neuniform. Caracterul schimbărilor valorilor A în diferite zone dă temei de a considera că severitatea daunelor cauzate de T și rata de recuperare a lor este specifică. În zona temperaturilor dintre $314 - 322^{\circ}$ K ($41 - 49^{\circ}$ C) deteriorările sunt reversibile, datorită la ce în această zonă a temperaturilor T valorile absolute ale A în ziua a cincea scad în comparație cu ziua întâia. T cu temperaturi mai înalte de 49° C cauzează creșterea bruscă a valorilor A , ceea ce susține ideea că deteriorările

provocate de T cu aceste temperaturi devin ireversibile, iar procesul de amplificare a lor depășește cel de recuperare. Este interesant de menționat că valorile maxime ale A (după valoarea absolută!), determinate în experimentele noastre, depășesc de aproximativ 1700 ori energia de activare a scurgerii electroliților din semințele de soia umectate la temperaturi scăzute [5] și, la estimările noastre [4], de 200 de ori energia de activare a scurgerii electroliților din frunze de cimișir expuse T . Probabil, aceasta se explică prin influența T asupra unui număr mult mai mare de procese care influențează creșterea în comparație cu numărul celor care determină scurgerea electroliților influențată de umectare sau T .

Datele de mai sus dau posibilitatea de a demarca regiunile dozelor T , după aplicarea cărora plantulele de grâu rămân viabile datorită rezistenței primare și proceselor de recuperare. De aceea a fost interesant de a determina dacă răspunsul altor genotipuri de grâu la aceste doze este similar celui a soiului Odessa 267. În figura 4 este prezentată dinamica valorilor CR a rădăcinilor unor soiuri de grâu expuse T cu 46°C pe parcursul a 30 minute. Putem observa că după valorile CR cele mai rezistente la ȘT sunt plantulele soiurilor Odessa 267 și Arnăut 7. La ele valorile CR în ziua întâia după ȘT sunt mai înalte, iar restabilirea ulterioară a lor este mai rapidă. O poziție intermediară ocupă soiurile Moldova 5, Artemida și Stolicinaia. Se poate observa o capacitate sporită de restabilire după aplicarea ȘT a valorii CR a rădăcinilor soiului Moldova 5. Datele de mai sus indică faptul că răspunsul de creștere a rădăcinilor plantulelor de grâu la acțiune T este determinat de suprimarea inițială a creșterii și de intensitatea proceselor de recuperare în perioada după aplicarea lui. Valorile CR în ziua întâia după aplicarea T dau posibilitatea de a aprecia rezistența primară a plantulelor, iar valorile CR din ziua a cincea – capacitatea de recuperare a deteriorărilor. Rezultatele obținute în cercetările noastre demonstrează că rezistența primară și capacitatea recuperativă la diferite genotipuri corelează pozitiv. Doar la soiul Moldova 5 s-a manifestat o capacitate de recuperare sporită în comparație cu rezistența inițială, fig.4.

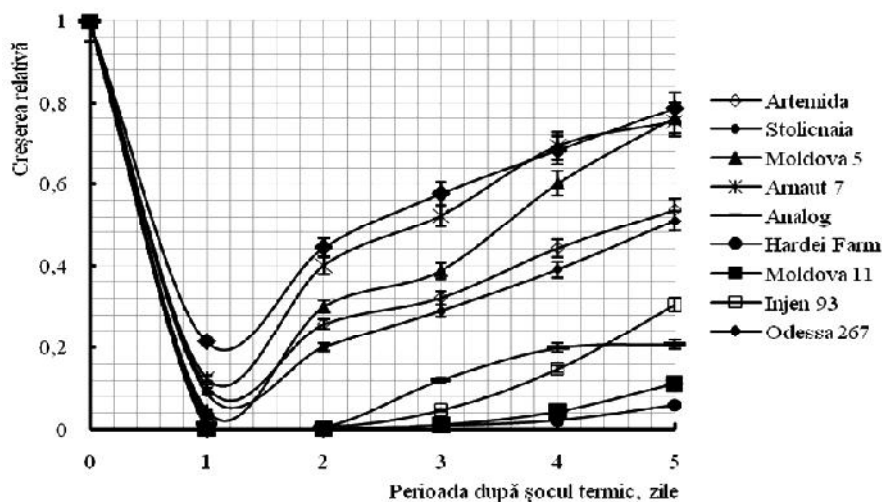


Figura 4. Dinamica creșterii relative ale rădăcinilor diferitelor soiuri de grâu în dependență de ziua care a trecut după aplicarea ocului termic cu 46°C pe parcursul a 30 minute.

Datele noastre susțin concluziile altor cercetători despre posibilitatea utilizării parametrului CR în urma T pentru a compara termotoleranța diferitor genotipuri de grâu [12, 13]. Experimentele noastre se deosebesc de cele realizate de alți autori prin aceea că ele au fost efectuate în condiții care limitează contribuția posibilă a procesului de aclimatare și de evitare (diminuare a dozei efective) a T . Rezultatele obținute susțin viziunea că soiurile de grâu testate au rezistență primară diferită. Din punct de vedere practic rezultatele sunt promițătoare deoarece susțin viziunea despre posibilitatea de a evalua rezistența plantelor la temperaturi ridicate în baza analizei minuțioase a influenței unor doze specifice ale T asupra creșterii rădăcinilor în perioada de creștere după expoziție. Mai mult ca atât, metoda permite aprecierea diferențiată a rezistenței inițiale și capacității de restabilire a creșterii. Rezultatele obținute în cercetările noastre demonstrează că rezistența primară și capacitatea recuperativă la diferite genotipuri corelează pozitiv. Doar la soiul Moldova 5 s-a manifestat o capacitate de recuperare sporită în comparație cu rezistența inițială, fig.4. Condițiile bine controlate de creștere a plantulelor, precizia măsurărilor datorită scanării și dozării precise a T asigură reproductibilitatea rezultatelor. Această abordare poate fi promițătoare nu numai pentru evaluarea comparativă a termotoleranței plantelor, ci și pentru trierea substanțelor care influențează rezistența primară și capacitatea recuperativă a plantelor la arșiță.

Concluzii

1. Creșterea relativă a rădăcinilor după expunerea plantulelor de grâu la diferite doze ale șocului termic dă posibilitatea de a aprecia frânarea inițială și cinetica de recuperare a deteriorărilor provocate de șocul termic.

2. După gradul de frânare și cinetica de recuperare a creșterii rădăcinilor în perioada după expunerea plantelor la șocul termic, temperaturile șocului termic pot fi divizate în zone diferite. În interiorul fiecărei zone sporirea energiei de activare a proceselor de frânare odată cu mărirea temperaturii șocului termic sporește constant.

3. Valorile creșterii relative ale rădăcinilor după expunerea la doze critice ale șocului termic dau posibilitatea de a diferenția genotipurile de grâu în conformitate cu termotoleranța lor.

Autorii aduc sincere mulțumiri doctorului habilitat Petru Buiucli pentru furnizarea semin elor diferitor soiuri de grâu utilizate în studiu.

Referin e

1. 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. V.30. P.35-77.

2. Camejo, D.; Marti, M.; Nicolas, E.; Alarcon, J.; Jimenez, A.; Sevilla, F. Response of superoxide dismutase isoenzymes in tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) during thermo-acclimation of the photosynthetic apparatus. *Physiologia Plantarum*.2007. V 131. P. 367-377.

3. Clewer A.G., Scarisbrick D.H. Practical statistics and experimental design for plant crop science //, Chichester, New York: John Wiley & Sons, LTD, 2001. 332 p.

4. Dascalu A., Nemerovschii A., Costica M., Costica N. Integrative approaches in evaluation the adaptive potential of plants to heat shock temperatures // În memoria academicianului Boris Matienco. Chișinău, 2011. P.194-196.

5. Leopold A.C. Temperature effects on soybean imbibitions and leakage // *Plant Physiol*. 1980. V. 65. P. 1096-1098.

6. *Levitt J.* Responses of plants to environmental stresses.// New York: Vol.1., Academic Press, 1980. 568 p.
7. *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. V. 74. P. 152-160.
8. *Quinn P.* Membrane stability under thermal stress // New York, USA. Plenum Publ.1989. P.511-515.
9. *Schneider S. H.* The greenhouse effect: Science and policy // *Science.* 1989. V 243. P. 771-781.
10. . . . Реакция клеток на тепловой шок: физиологический аспект // *Цитология.* 1994. Т. 3. С. 5-59.
11. . . . Изменение во времени фототаксиса хлоропластов и движения цитоплазмы в растительных клетках после теплового шока // *Физиология растений.* 1990. Т. 37. С. 133-141.
12. . . Особенности ростовой реакции и белкового синтеза проростков пшеницы при тепловом стрессе: Автореф. дис. канд. биол. наук. – Кишинев, 1989. 17с.
13. . . . Ростовая реакция проростков пшеницы на действие высоких температур // *Физиология растений.* 1986. Т. 33. С.134-141.
14. . . . Действие высоких температур на коферментный состав и активность изозимов пероксидазы листьев пшеницы // *Физиология и биохимия культ. растений.* 1979. Т. 11. С. 113 – 117.
15. . . . Визначення стійкості рослин до високих температур методом витоку електролітів // *Вісник аграрної науки.* 2006. С.44-46.

Харчук О.А., Кириллов А.Ф., Козьмик Р.А., Баштовая С.И.,
Кириллова Э.Н., *Митина Т.

Институт генетики и физиологии растений Академии Наук Молдовы,
*Институт химии Академии Наук Молдовы

Rezumat

În baza datelor experimentale a fost relevat caracterul modificărilor stasului apei în rădăcini și frunze, precum și productivității plantelor de soia s. Bucuria expuse acțiunii repetate și complexe a insuficienței de umiditate și conținutului sporit de bicarbonați în sol. S-a constatat că, pe fondalul secetei de scurtă durată în prima jumătate a perioadei de vegetație, conținutul sporit de bicarbonați în sol condiționează sporirea conținutului de apă în simplastul rădăcinilor, diminuarea potențialului hidric și turgescenței relative a frunzelor. Acțiunea secetei repetată, în perioada împlinirii boabelor, conduce la diminuarea în continuare a conținutului de apă atât în simplastul, cât și în apoplastul frunzelor, micșorarea considerabilă a potențialului hidric și turgescenței relative a lor. Conținutul sporit de bicarbonați în sol, în special pe fondalul insuficienței de umiditate, condiționează micșorarea cotei producției unile (semincere) în masa uscată totală a plantelor de soia și diminuarea eficacității utilizării apei de către plante.