

На правах рукописи

ФАИЗОВ РУСЛАН ГУМЕРОВИЧ

**РЕГУЛЯЦИЯ ВОДНОГО ОБМЕНА У РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ И
ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ НАРАСТАНИЯ ДЕФИЦИТА ВОДЫ**

03.00.16 - Экология

03.00.12 - Физиология и биохимия растений

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

УФА – 2007

Работа выполнена в Институте биологии Уфимского научного центра
Российской Академии наук.

Научный руководитель – кандидат биологических наук, доцент

Высоцкая Лидия Борисовна

Научный консультант: кандидат биологических наук

Веселов Дмитрий Станиславович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор

Шакирова Фарида Миннихановна

доктор биологических наук, профессор

Веселов Александр Павлович

Ведущая организация – Институт биологии Карельского НЦ РАН

Защита состоится 13 ноября 2007г. в 14.00 часов на заседании
диссертационного совета КМ 002.136.01 при Институте биологии УНЦ РАН

Адрес: 450054, г. Уфа, ул. Пр. Октября 69

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УНЦ РАН

Автореферат разослан2007 г.

Ученый секретарь

Диссертационного совета



к.б.н. Р.В. Уразгильдин

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Доступность воды – важный экологический фактор, от которого зависит рост, урожайность и выживание растений. За период вегетации растения поглощают и испаряют количество воды в тысячи раз превосходящее их вес. Тем самым они вносят существенный вклад в кругооборот воды в природе. Но эта же особенность растений усиливает их зависимость от доступности воды, и поэтому выживание растений определяется их способностью поддерживать водный обмен. Наземные растения испытывают дефицит воды в воздухе даже в условиях достаточного ее количества в почве. Долгое время основное внимание исследователей уделялось приспособительным ростовым реакциям растений, обеспечивающим экономию воды и ее поглощение. Хорошо известно, что уменьшение скорости роста побега и формирование мелких листьев уменьшает испарение воды растением, а абсолютная и относительная активация роста корней повышает способность растений поглощать воду. Такая реакция обеспечивает выживание растений в условиях продолжительного действия засухи. Однако довольно часто растение подвергается воздействию кратковременного дефицита воды в почве или воздухе. В этих условиях засухоустойчивость обеспечивают реакции, не требующие необратимых морфологических изменений. Быстрое уменьшение потери воды растениями достигается путем закрытия устьиц, поэтому изучение механизмов регуляции этого процесса было объектом пристального внимания исследователей. Открытие водных каналов аквапоринов (Chrispeels, Maurel, 1994) послужило стимулом к изучению механизмов регуляции водной проводимости мембран. Однако роль аквапоринов в регуляции гидравлической проводимости целого растения стала изучаться лишь в последнее время (Zhu et al., 2005). Ряд исследователей отмечают важную роль координации устьичной и гидравлической проводимости для поддержания водного баланса (Steudle, Peterson, 1998). Однако механизм такой координации остается неясным. Известно, что гормоны могут регулировать как устьичную, так и гидравлическую проводимость (Mansfield, McAinsch, 1995). Поэтому весьма важно изучение их роли в согласовании изменений устьичной и гидравлической проводимости. Перспективным подходом для исследования механизмов, обеспечивающих приспособление растений к дефициту воды, является сравнение сортов, различающихся по засухоустойчивости. Выявление особенностей поддержания водного баланса у таких растений может способствовать обнаружению роли механизмов регуляции устьичной и гидравлической проводимости в формировании засухоустойчивости и возможности их использования в качестве физиологических тестов для отбора засухоустойчивых форм. Выбор пшеницы и ячменя в качестве объекта исследований определялся как хозяйственной ценностью данных видов, так и различиями в характере водного обмена (Steudle, Jescke, 1983). Ранее в лаборатории физиологии растений Института биологии УНЦ

РАН были выявлены контрастные реакции устьиц на дефицит воды в воздухе у разных сортов растений яровой пшеницы, и предварительные полевые опыты показали, что особенности устьичной реакции проявляются как в лабораторных, так и полевых экспериментах (Фархутдинов и др., 2004). Однако требовались более длительные полевые наблюдения для того, чтобы установить степень стабильности наблюдаемых различий. Подобные исследования на растениях различных сортов ячменя не проводились. Представляло интерес выяснить, можно ли использовать устьичную реакцию растений на дефицит воды для оценки засухоустойчивости не только пшеницы, но и других видов злаков.

Цель и задачи исследований. Цель работы состояла в выявлении особенностей регуляции водного обмена у различающихся по засухоустойчивости растений пшеницы и ячменя при воздействии дефицита воды. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучение поглощения экзогенной АБК и распределения этого гормона в растениях пшеницы.

2. Исследование роли АБК в регуляции устьичной и гидравлической проводимости и их координации.

3. Оценка стабильности проявления в полевых условиях различий в поведении устьиц между сортами яровой пшеницы, выявленных в лабораторных и полевых опытах.

4. Проведение сравнительного изучения особенностей водного обмена у растений ячменя с контрастной засухоустойчивостью при дефиците воды в воздухе и среде корнеобитания.

Научная новизна. Впервые обнаружено, что 8-дневные растения пшеницы отличаются низкой способностью поглощать экзогенную АБК. Это объясняет ранее обнаруженный факт, что для накопления ее в растении и повышения гидравлической проводимости корня требуются высокие концентрации этого гормона в питательном растворе. Обнаружено, что предотвращение оттока АБК из побега в корень не дает проявиться способности этого гормона повышать гидравлическую проводимость, а вместо этого наблюдается закрытие устьиц. Это подтверждает участие АБК в координации устьичной и гидравлической проводимости, а также доказывает важную регуляторную роль транспортируемого из побега гормона. Установлено, что в полевых условиях особенности устьичной реакции у растений пшеницы, различающихся по засухоустойчивости, проявляются при определенных погодных условиях: резком повышении температуры и снижении влажности воздуха на фоне высокой влажности почвы. Показано, что особенности устьичной реакции растений разных сортов яровой пшеницы и ячменя проявляются при различных внешних условиях: у растений пшеницы - при понижении влажности воздуха на фоне низкой (19-24 °С), а у растений ячменя - на фоне высокой (29-30 °С) температуры. У растений ячменя

различия между сортами проявляются также и при оценке их устьичной реакции на дефицит воды в среде корнеобитания и удалении части корней.

Практическая значимость работы. На основе лабораторных и полевых исследований растений ряда сортов пшеницы и ячменя, различающихся по засухоустойчивости, выявлены особенности показателей водного обмена растений, которые могут быть использованы для предварительной оценки адаптивного потенциала селекционного материала. У растений пшеницы таким тестом может быть оценка устьичной реакции растений на повышение температуры воздуха, а у растений ячменя – на снижение поступления воды из корней, вызванное кратковременным засолением и удалением части корней.

Апробация работы. Основные положения представлены на 6-ой международной конференции Общества Физиологов Растений России «Современная физиология растений: от молекул до экосистем» (Сыктывкар, 2007).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 3 работы.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов и библиографического списка, включающего 220 наименований, в том числе 183 на иностранных языках. Работа изложена на 126 страницах, содержит 5 таблиц, 22 рисунка.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объект исследований и постановка опытов. Исследования проводили на растениях твердой яровой (*Triticum durum* Desf., сорт Безенчукская 139) и мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорта Казахстанская 10, Башкирская 26, и Ирень), а также на растениях ячменя (*Hordeum vulgare*, сорта Прерия, Михайловский). Полевые исследования проводили на опытных полях Башкирского НИИ Сельского хозяйства, расположенных в Чишминском районе. В лабораторных условиях семена проращивали в темноте на водопроводной воде и пересаживали на 10%-ную среду Хогланда-Арнона. Условия выращивания: освещенность 18 клк и 14-часовой фотопериод, температура воздуха в течение светового периода 21-30 °С, в зависимости от опыта. Объектом исследования в лабораторных условиях служили 7-8-дневные проростки в фазе выхода первого листа. В этом возрасте побег растений представляет собой растущий первый лист, основание которого находится в рудименте колеоптиля. Поэтому при описании результатов термин побег и лист взаимозаменяемы.

Температуру воздуха повышали на $4 \pm 1^\circ\text{C}$ за несколько минут потоком горячего воздуха. В опытах по изучению влияния АБК на транспорт воды через корни в питательную среду добавляли экзогенный гормон до конечной концентрации $2 \cdot 10^{-6}$ М. При проведении экспериментов по подавлению флоэмного транспорта основание побега фиксировали в кольце из тонкой трубки, через которую пропускали ледяную воду. В опытах с удалением корней оставляли один

главный корень. Поверхность срезов удаленных корней располагали над питательным раствором, предотвращая поступление воды в побег по ксилемным сосудам (Высоцкая, 2005).

Рост растений регистрировали с помощью датчика роста на основе линейного дифференциального трансформатора с подвижным сердечником ДЛТ-2 (Дедов, 1997). *Транспирацию* оценивали гравиметрически. Для измерения *устычного сопротивления* был использован порометр (МК Delta-T, UK). *Относительное содержание воды* (ОСВ) определяли согласно методике описанной Pardossi et al. (1992). Сырой вес определяли сразу после отделения листа от растения. Для определения сухого веса образцы высушивали при 85 °С в течение 24 часов. Для определения тургорного веса побеги помещали в закрытые стеклянные сосуды с дистиллированной водой при 20 °С на 16 часов в условиях рассеянного света. ОСВ рассчитывали по формуле:

$$\text{ОСВ} = (\text{сырой вес} - \text{сухой вес}) / (\text{тургорный вес} - \text{сухой вес}) \times 100\%$$

Осмотический потенциал растительных тканей и ксилемного сока ($\Psi_{\text{осм}}$) оценивали с помощью цифрового микроосмометра (CAMLAB Limited, UK). Клеточный сок из листа отжимали с помощью шприца после замораживания и оттаивания навески материала (Жолкевич и др., 1989). Для определения *объемного потока* воды через корни (J_v) большую часть побега срезали. Отделенную корневую систему через оставшееся основание соединяли с тонким стеклянным капилляром с помощью силиконовой трубки. Объемный поток (J_v , мг / (ч·г сырой массы корней) определяли как соотношение веса ксилемного сока к продолжительности его сбора и сырой массе корней (Carvajal et al., 1996). *Гидравлическую проводимость* растений рассчитывали по аналогии с законом Ома (Carvajal et al., 1996) $L_p = J_v / \Delta \Psi \pi$,

где L_p – гидравлическая проводимость корней растений (мг / (час · г сырого веса корня · МПа), J_v – объемный поток ксилемного экссудата через корни (мг / (час · г сырого веса корня), $\Delta \Psi \pi$ - разность осмотических потенциалов между питательной средой и ксилемным экссудатом (МПа).

Сбор флоэмного сока осуществляли по методике, описанной в литературе (Caputo, Barneix, 1999). У десяти растений отрезали корни и помещали в пробирки с 20 мМ раствором ЭДТА (этилендиаминотетрауксусной кислоты). Для сбора корневого экссудата использовали стеклянные капилляры, которые присоединяли к оставшейся части основания побега с помощью силиконовых трубочек.

Для определения содержания гормонов гомогенизированный растительный материал, ксилемный и флоэмный (Caputo, Barneix, 1999) сок экстрагировали 80%-ным этанолом. Экстракцию АБК из аликвоты водного остатка после спиртовой экстракции проводили по модифицированной схеме с уменьшением объема (Veselov et al., 1992). Содержание АБК определяли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (Veselov et al., 1992).

Анализ содержания гормонов проводили в 9 биологических (по 10 растений в каждом) и 4 аналитических повторениях. Данные по транспирации, скорости роста, устьичной и гидравлической проводимости рассчитывали из 10-20 повторений. На рисунках и в таблицах приведены средние значения и их ошибки. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы MS Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Особенности поглощения экзогенной АБК растениями пшеницы и ее влияние на гидравлическую проводимость

Количество испаряемой листьями воды часто меняется вследствие изменения температуры и уровня освещенности в условиях переменной облачности, а также под влиянием порывов ветра. При этом многие растения (например, растения пшеницы) сохраняют удивительное постоянство содержания воды в тканях листа. Как видно из рисунка 1, в течение дня транспирация растений пшеницы колебалась в широком диапазоне, в то время как содержание воды изменялось лишь на несколько процентов. Изучение механизмов поддержания водного баланса растений предполагает выявление возможных регулирующих факторов. Известно, что гормоны регулируют многие процессы в растениях и в том числе процессы, связанные с водным обменом. В наибольшей степени изучена роль АБК в регуляции водного обмена. Способность АБК закрывать устьица, не вызывает сомнений. Однако ее влияние на гидравлическую проводимость менее изучено. Введение АБК в питательный раствор усиливает поток воды из изолированных корней проростков пшеницы (рис. 2). Эти результаты соответствовали данным литературы, которые были получены для растений кукурузы (Freudle et al., 1998).

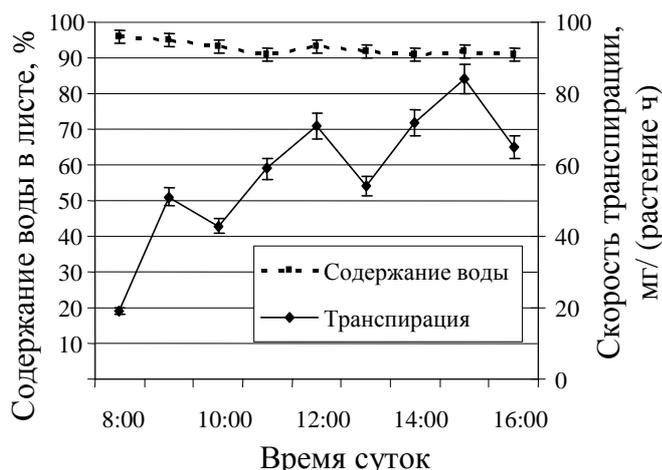


Рис. 1. Дневная динамика транспирации и содержания воды в листьях растений пшеницы сорта Безенчукская 139

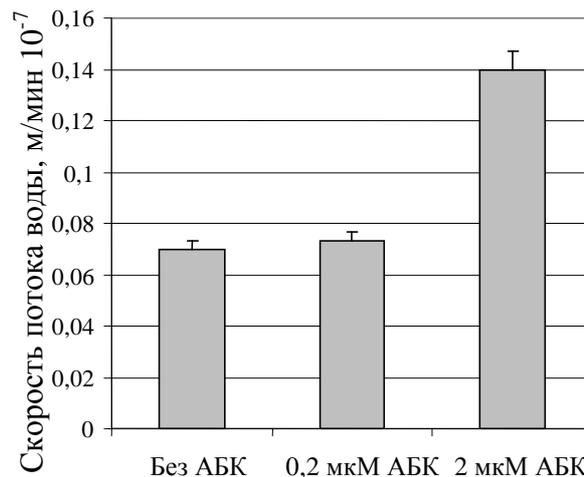


Рис. 2. Скорость потока воды из изолированных корней 7-дневных растений пшеницы сорта Безенчукская 139 при добавлении в питательную среду АБК

Добавление АБК в питательный раствор до конечной концентрации 2 мкМ вызывало увеличение потока воды из корней, что указывало на быстрое возрастание гидравлической проводимости под влиянием гормона (рис. 2). Однако, в отличие от растений кукурузы (Freudle et al., 1998), в экспериментах с растениями пшеницы АБК в концентрации 0,2 мкМ не влияла на скорость потока воды из корней. В некоторых работах было показано, что такая высокая концентрация (2мкМ) АБК, которой практически не бывает в ксилемном соке самих растений, вызывает у кукурузы обратную реакцию, т.е. снижение, а не увеличение гидравлической проводимости (Beaudette et al., 2007). Вместе с тем, опыты с экзогенными гормонами сложно интерпретировать, поскольку они не дают представления о том, какая часть гормона поглощается растением. Необходимо было оценить степень изменения содержания АБК в растениях пшеницы при добавлении гормона в питательный раствор.

Как видно из рисунка 3, добавление гормона в питательный раствор уже через 15 минут вызывало двукратное увеличение его содержания в корнях растений, которое затем слегка возрастало и достигало максимума через 30 минут. При этом ни в побеге, ни в корневом экссудате не было обнаружено изменений в содержании АБК.

Концентрация АБК в самих корнях растений, инкубированных на питательной среде с экзогенным гормоном, не превышала 10% от концентрации в питательном растворе. Отличие растений пшеницы от растений кукурузы по их способности поглощать АБК из питательного раствора могут быть связаны с особенностями транспорта воды. Было показано, что у молодых растений кукурузы на гидропонической среде основная часть воды вместе с растворенными веществами движется по апопласту, минуя апопластные барьеры предположительно в области формирующихся боковых корней (Freudle et al., 1998). У растений ячменя доминирует симпластный транспорт (Steudle, Jescke, 1983), а растения пшеницы, по всей видимости, занимают промежуточное положение в этом ряду.

Каковы бы ни были механизмы, препятствующие быстрому проникновению АБК из питательного раствора в растения пшеницы, концентрация АБК в корнях увеличивалась всего в 2 раза по сравнению с контрольными растениями.

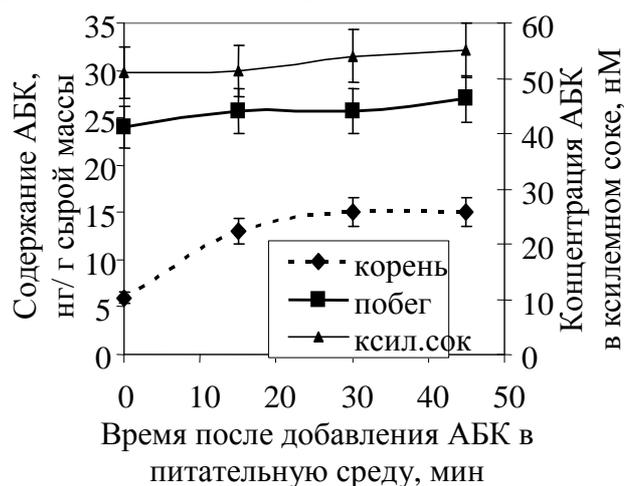


Рис. 3. Содержание АБК в корнях, побегах и ксилемном соке 7-дневных растений пшеницы сорта Безенчукская 139 после добавления в питательный раствор АБК до концентрации 2 мкМ

Сравнение данных таблицы 1 позволяет заметить, что при ряде внешних воздействий содержание эндогенной АБК возрастало в той же степени, что и при применении экзогенного гормона. Важно то, что при всех этих воздействиях возрастала гидравлическая проводимость корней растений пшеницы. Поскольку возрастание концентрации АБК в корнях при инкубации на экзогенном растворе сопровождалось изменением потока воды из изолированных корней, эти результаты подтверждают способность АБК влиять на гидравлическую проводимость корней растений пшеницы. Данные, представленные в таблице 1, также подтверждают справедливость ранее высказанных предположений о том, что накопление эндогенной АБК в корнях при удалении части корней и повышении температуры воздуха может быть стимулом для повышения гидравлической проводимости (Веселова, 2003; Vysotskaya et al., 2004). Аргументом против предположения о регуляторной роли эндогенной АБК в растениях пшеницы было то, что в опытах с экзогенной АБК требовалось добавить в инкубационную среду относительно много гормона для того чтобы обнаружить изменение гидравлической проводимости этих растений. Однако полученные нами и анализируемые в данном разделе результаты экспериментов свидетельствуют о том, что растения пшеницы поглощают лишь малую часть экзогенного гормона, и изменения его концентрации в тканях корней вполне сопоставимы с изменением содержания эндогенных гормонов.

Таблица 1.

Изменение содержания АБК в корнях 7-дневных растений пшеницы сорта Безенчукская 139 и их гидравлической проводимости при удалении корней, повышении температуры воздуха и инкубации на 2 мкМ растворе АБК. Время воздействия 30-60 мин.

Воздействие	Содержание АБК в корнях растений, нг/г сырой массы		Гидравлическая проводимость
	Контроль	Опыт	
Удаление части корней	18	35	Возрастала
Повышение t воздуха	20	55	Возрастала
Экзогенная АБК	6	13	Возрастала

Что касается механизма действия гормона, то он, по данным литературы, может реализовываться через регуляцию фосфорелирования аквапоринов (Johansson et al., 1996; Kjellbom et al., 1999) и через уровень экспрессии генов, кодирующих аквапорины (Zhu et al., 2005; Beaudette et al., 2007).

2. Роль флоэмного транспорта в распределении АБК между побегом и корнем

Эксперименты по изучению скорости накопления экзогенной АБК подтвердили, что изменение концентрации этого гормона в корнях в том диапазоне, который характерен для эндогенной АБК, имеет важное физиологическое значение. В свете этих результатов представляло интерес выяснить, каким образом АБК может накапливаться в корнях. До начала нашей работы было высказано предположение, что накопление АБК в корнях растений

пшеницы, которое наблюдали при повышении температуры воздуха, происходит благодаря усилению притока гормона из побега (Фархутдинов, 2005). Блокирование флоэмного транспорта путем охлаждения основания побега предотвращало накопление АБК в корнях при повышении температуры (Фархутдинов, 2004). Вместе с тем, ингибирование притока фотоассимилятов в корни может нарушать синтетические процессы в самом корне. Поэтому важно было непосредственно измерить скорость притока АБК в корни при повышении температуры.

Повышение температуры воздуха с 21 до 25 °С приводило к возрастанию потока АБК по флоэме (контроль – 80 ± 4 , а нагревание 248 ± 14 пг на растение в час). Это подтверждает предположение о том, что накопление АБК в корнях при повышении температуры воздуха могло быть связано с ее поступлением из побега. Исходя из анализа данных литературы, можно предположить, что увеличение продукции АБК в листе, обеспечившее повышение ее доставки в корни, могло быть следствием первоначального снижения оводненности листа, оттока воды из клеток и уменьшения их объема (Jia et al., 1997; Ахиярова и др., 2005, Веселов и др., 2007).

3. Физиологическая роль перераспределения АБК между побегом и корнем

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что накопление АБК в корнях за счет усиления ее притока из побега увеличивало гидравлическую проводимость корней (рис. 2). В тоже время охлаждение основания побега

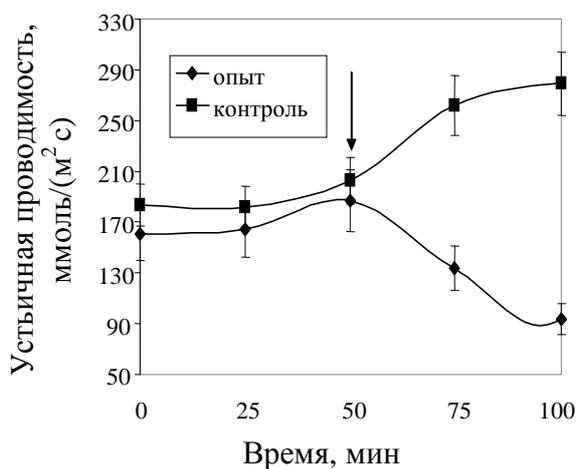


Рис. 4. Устьичная проводимость растений пшеницы при повышении температуры воздуха от 20-21 до 23-25 °С без блокирования флоэмного транспорта (контроль) и при блокировании флоэмного транспорта (опыт)

предотвращало накопление АБК в корнях, и вместо этого гормон накапливался в листьях (Фархутдинов, 2004). Представляло интерес выяснить, к каким физиологическим последствиям приводит накопление АБК в побеге, а не в корнях. Для того, чтобы получить ответ на этот вопрос, мы проследили динамику устьичной проводимости у растений пшеницы при повышении температуры воздуха и блокировании флоэмного транспорта.

Как видно из рисунка 4, в отсутствие флоэмного блока повышение температуры воздуха увеличивало устьичную проводимость. При этом увеличение потери воды растением за счет транспирации компенсировалось возрастанием

гидравлической проводимости и притока воды из корней (Фархутдинов и др, 2003).

При блокировании флоэмного транспорта вместо возрастания устьичной проводимости происходило ее снижение (рис. 4). Это вполне соответствует тому, чего следовало ожидать в результате накопления АБК в листьях (Иванов, 2006).

Блокирование флоэмного транспорта путем охлаждения основания листа снижало скорость роста листа (см. отрезок времени между двумя стрелками на рис. 5). Последующий нагрев воздуха сопровождался полным прекращением роста и сжатием листа. Однако затем рост возобновлялся. На фоне блокирования флоэмного транспорта при последующем нагреве воздуха водный баланс восстанавливался за счет параллельного снижения как гидравлической, так и устьичной проводимости. В случае нагревания воздуха в отсутствие флоэмного блока рост восстанавливается в результате увеличения гидравлической проводимости.

Таким образом, прослеживается два альтернативных пути поддержания водного баланса. Первый заключается в одновременном возрастании как транспирационных потерь, так и притока воды из корней за счет одновременного

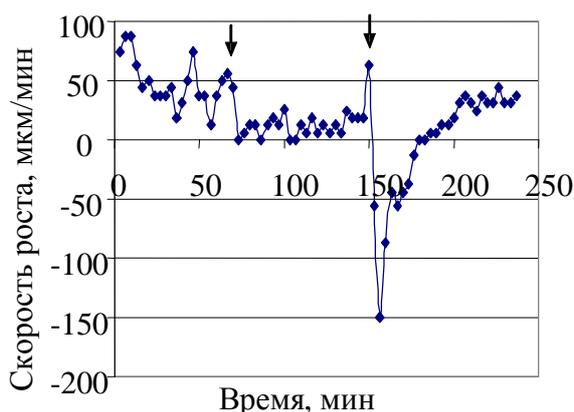


Рис. 5. Скорость роста первого листа растений пшеницы, у которых блокировали флоэмный транспорт (стрелка слева), а затем повышали температуру воздуха на 3-4° (правая стрелка)

должна обеспечивать высокую урожайность растений в условиях воздушной засухи. Вместе с тем, такой тип адаптации возможен только в условиях доступной почвенной влаги.

Было важно понять, от чего зависит выбор растения между двумя альтернативными реакциями. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что в роли такого «триггера» может выступать АБК. Ее отток из листьев в корни обеспечивает повышение гидравлической проводимости и усиление притока воды из корней, что способствует поддержанию устьиц в открытом состоянии. И наоборот, блокирование транспорта АБК в корни и ее накопление в листьях может

увеличения гидравлической и устьичной проводимости. Второй путь реализуется за счет ограничения транспирационных потерь и снижения притока воды из корней. Преимущество второго варианта адаптивной реакции заключается в возможности экономить воду. Такая реакция должна быть более эффективной в условиях почвенной засухи. Ее недостаток в том, что закрытие устьиц подавляет фотосинтез за счет нарушения газообмена. Первый тип реакции обеспечивает высокий уровень газообмена и охлаждение растений за счет транспирации. Такая реакция

быть предпосылкой альтернативной реакции: закрытия устьиц и одновременного снижения гидравлической проводимости. Таким образом, выбор между двумя типами реакций, вероятно, в значительной степени определяется распределением АБК между побегом и корнем.

4. Сравнение устьичной реакции разных сортов растений пшеницы на дефицит воды в лабораторных экспериментах и полевых условиях

До начала нашей работы было показано, что существуют различия в устьичной реакции у разных сортов растений пшеницы на повышение температуры воздуха (Фархутдинов и др. 2003). Было важно выяснить, насколько

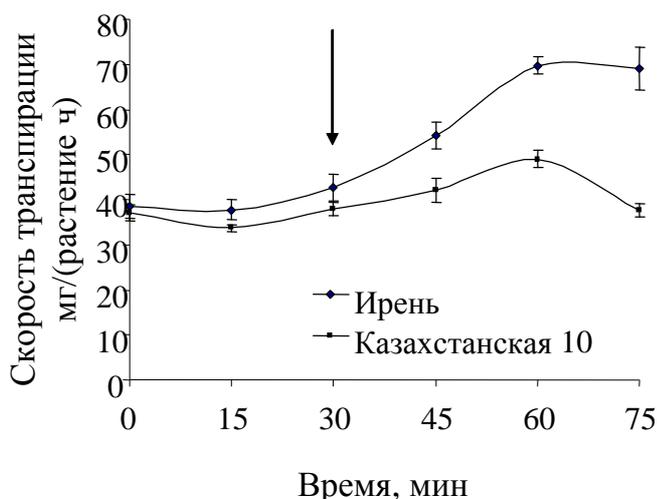


Рис. 6. Изменение скорости транспирации растений пшеницы при повышении температуры воздуха на 3-4° (↓).

распространена и стабильна такая реакция у растений пшеницы. С этой целью в качестве объекта исследований были выбраны растения двух сортов пшеницы, районированных в контрастных климатических условиях. Задача исследований состояла в выяснении особенностей устьичной реакции на возрастание дефицита воды в воздухе.

Повышение температуры воздуха на 3-4 градуса сопровождалось резким возрастанием транспирации у растений пшеницы сорта Ирень, и через 30 минут она была уже почти в 2

раза выше исходной (рис. 6). У растений сорта Казахстанская 10 транспирация возросла лишь на 25% по сравнению с исходной за первые 15 минут, а затем снизилась до исходного уровня. Устьичная проводимость через час после повышения температуры возросла у растений сорта Ирень в полтора раза и снизилась у сорта Казахстанская 10 – на 20-30% по сравнению с исходным уровнем (табл. 2).

Таблица 2

Устьичная и гидравлическая проводимость растений через 1 час после повышения температуры воздуха на 3-4 °С

Проводимость	Ирень		Казахстанская 10	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Устьичная, ммоль/(м ² с)	380 ± 38	590 ± 70	410 ± 30	320 ± 40
Гидравлическая, мг/(ч МПа г сырой массы корня)	310 ± 40	490 ± 50	350 ± 20	270 ± 30

Оводненность растений через час после повышения температуры была такой же как исходная (89-91% в зависимости от исходной влажности воздуха).

Гидравлическая проводимость изменялась аналогичным образом с изменением устьичной проводимости: возрастала у растений сорта Ирень и снижалась у растений сорта Казахстанская 10 (табл. 2).

Определение устьичной проводимости в полевых условиях проводилось в течение двух летних сезонов. В 2004 г. – 11 и 22 июня, когда растения находились в фазе кущения и начала выхода в трубку. Эти два дня резко отличались по температуре и влажности. Перед 11 июнем и в последующие дни шли дожди, и температура была около 19 °С (влажность воздуха 80 %), в то время как перед 22 июня дожди прекратились, температура поднялась до 27 °С градусов, и хотя почва оставалась влажной, относительное содержание паров воды в воздухе снизилось до 40%. 11 июня устьичная проводимость у растений обоих сортов существенно не различалась, однако 22 июня устьичная проводимость у растений сорта Ирень была почти в 2 раза выше, чем у растений сорта Казахстанская (табл. 3). По сравнению с первым днем устьичная проводимость у растений сорта Ирень возросла, а у сорта Казахстанская 10 – снизилась.

Таблица 3.

Устьичная проводимость (ммоль/(м² с) растений пшеницы в полевых условиях Чишминского опытного хозяйства в 2004 г

	Дата проведения измерения (относительная влажность воздуха, %)	
Сорта	11 июня (80 %)	22 июня (40 %)
Ирень	418± 40	547± 62
Казахстанская-10	480± 43	296± 31

Таким образом, в полевых условиях устьица растений двух сортов реагировали на повышение температуры так же, как и в лабораторных условиях: у растений сорта Ирень устьица открывались шире, а у Казахстанской – закрывались.

В условиях 2005 года не удалось обнаружить такие резкие различия в поведении устьиц растений данных сортов, как в 2004 году. Однако и здесь сохранились те же тенденции. Исследования проводились более детально. С 16 по 25 июня устьичную проводимость измеряли ежедневно. С 14 по 17 июня осадков не было, относительная влажность воздуха была стабильно низкой (около 30%) и соответственно низкой была устьичная проводимость растений обоих сортов (около 200 ммоль/(м² с). Причем различий между сортами по этому показателю не удалось обнаружить (данные приведены в диссертации).

В период с 18 по 19 июня шли дожди и относительная влажность воздуха возросла до 80%, что привело к повышению устьичной проводимости с 100-200 до 600-800 ммоль/(м² с). И в этот период различий по устьичной проводимости между данными сортами также не было (данные приведены в диссертации). Затем дожди прекратись и со снижением влажности воздуха в середине дня с 80 до 60% проявились различия в устьичной проводимости: у растений сорта

Казахстанская 10 она снизилась, в то время как у роста Ирень оставалась примерно на том же уровне (рис. 7).

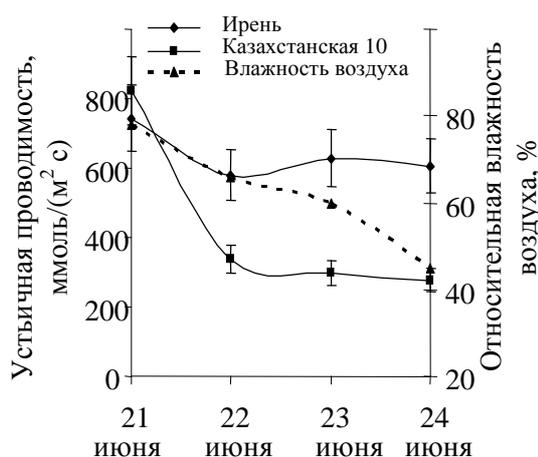


Рис. 7. Устьичная проводимость растений пшеницы сортов Ирень и Казахстанская 10 в полевых условиях Чишминского опытного хозяйства в июне 2005 г. в период падения относительной влажности воздуха.

Таким образом, особенности сортов, различающихся по засухоустойчивости, удалось выявить только при определенных погодных условиях: когда после дождей на фоне все еще влажной почвы резко снижалась влажность воздуха.

Регуляция устьичной проводимости является компромиссом между формированием устойчивости и урожайностью растений (Jones, 1998). Это предположение подтверждают полученные нами результаты. Сорт Ирень (для которого характерна способность поддерживать устьица открытыми при дефиците воды в воздухе) дает хорошие урожаи в условиях с

высокой влагообеспеченностью, а Казахстанская 10 (быстро закрывающая устьица при дефиците воды) отобрана для выращивания в засушливом климате. Эти результаты соответствуют данным литературы о том, что в условиях орошаемого земледелия сорта пшеницы, дававшие высокий урожай, отличались повышенным уровнем транспирации (Lu et al., 1998). Таким образом, изучение реакции устьиц на увеличение дефицита воды в воздухе (на фоне высокой влажности почвы) может быть полезным в процессе сортоиспытания, и позволит дать предварительные рекомендации для районирования сортов. В литературе можно встретить много работ, в которых пытались использовать устьичную проводимость как критерий для отбора растений на засухоустойчивость. Однако результаты оказались неоднозначными (Quarrie et al., 1999). Причина неудачи могла быть в том, что в этих работах не учитывалась влажность воздуха и почвы.

5. Реакция устьиц разных сортов растений ячменя на дефицит воды

Представляло интерес выяснить, можно ли использовать устьичную реакцию растений на дефицит воды для оценки засухоустойчивости не только пшеницы, но и других видов злаков.

Для выявления контрастных по засухоустойчивости сортов ячменя мы провели анализ данных по урожайности за 3 года, собранные Госсортокомиссией в различающихся по климатическим условиям районах. Были отобраны сорта: Михайловский – растения влаголюбивы и плохо переносят засуху и Прерия – засухоустойчивый сорт.

5.1. Реакция устьиц растений ячменя различающихся по засухоустойчивости на повышение температуры.

Задача данного этапа исследований состояла в том, чтобы изучить устьичную реакцию на повышение температуры воздуха у растений ячменя. Важно было выявить возможную связь между этой реакцией и засухоустойчивостью растений.

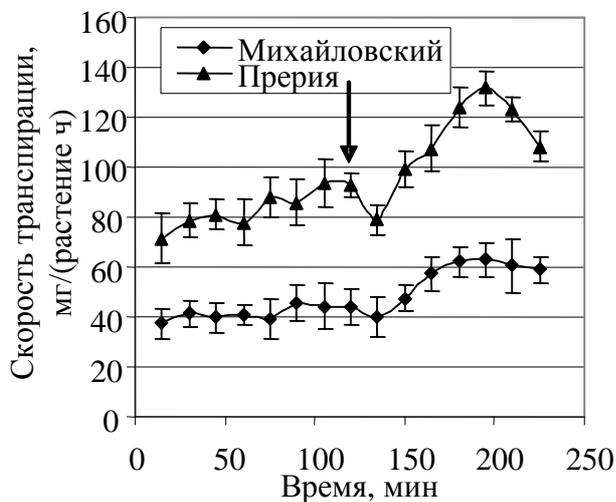


Рис. 8. Скорость транспирации у растений ячменя сортов Михайловский и Прерия при повышении температуры воздуха на 3-4° (исходная температура 25-26 °C). Стрелкой обозначено время повышения температуры

3-4° не вызвало изменений скорости транспирации (данные приведены в диссертации). В последующих экспериментах исходная температура была повышена до 25-26 °C.

Из рисунка 8 видно, что при такой первоначальной температуре ее дальнейшее повышение увеличило скорость транспирации у растений обоих сортов. Вместе с тем нам не удалось обнаружить различий в реакции растений ячменя, отличающихся по засухоустойчивости. В следующих опытах исходная температура была увеличена до 30 °C. В этом случае последующее повышение температуры воздуха на 3-4° сопровождалось возрастанием скорости транспирации у растений сорта Прерия (рис. 9). При данной высокой исходной температуре

засухоустойчивостью растений. Поэтому мы проверили, как реагируют на повышение температуры воздуха растения двух сортов ячменя, которые различались по засухоустойчивости. На первом этапе нашей работы с растениями ячменя исходная температура перед нагревом воздуха была 20-21 °C. Именно при такой исходной температуре ее дальнейшее повышение на 3-4° приводило к резкому возрастанию транспирации в два-три раза у растений влаголюбивых сортов пшеницы. В этих условиях у растений ячменя обоих сортов

повышение температуры воздуха на 3-4° не вызвало изменений скорости транспирации (данные приведены в диссертации).

В последующих экспериментах исходная температура была повышена до 25-26 °C.

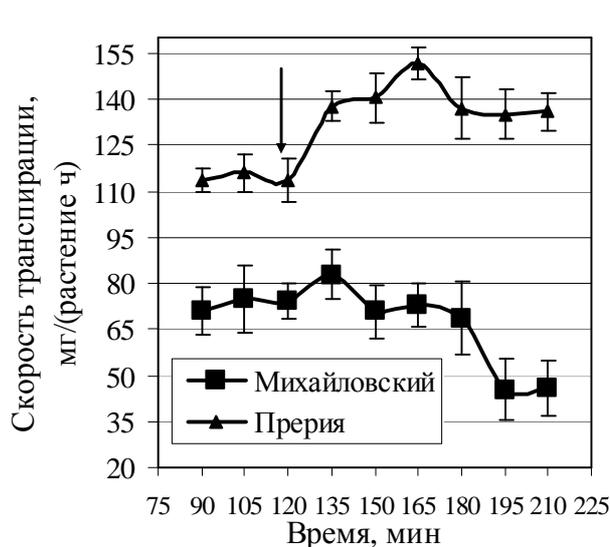


Рис. 9. Скорость транспирации растений ячменя при повышении температуры воздуха на 3-4° (исходная температура 30 °C). Стрелка – повышение температуры

проявлялись сортовые различия между растениями ячменя: у растений сорта Михайловский в отличие от растений сорта Прерия скорость транспирации не возрастала, а снижалась. Интересно то, что у растений ячменя проявлялась противоположная закономерность по сравнению с растениями пшеницы. Если у растений пшеницы при повышении температуры устьица оставались открытыми у более влаголюбивого сорта, то у растений ячменя, наоборот, способность поддерживать высокую скорость транспирации проявляли более засухоустойчивые растения. Вероятно, различия в реакции у растений пшеницы и

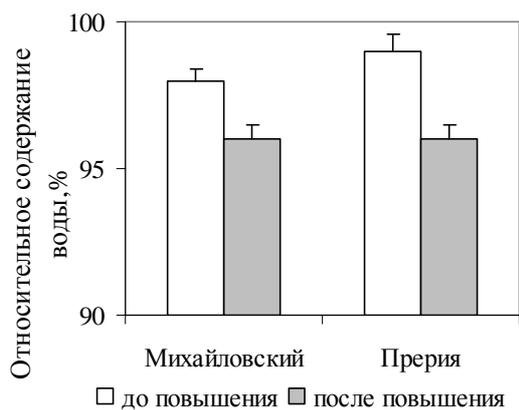


Рис. 10. Относительное содержание воды в листьях растений ячменя через час после повышения температуры воздуха на 3-4° (исходная температура 30 °С)

ячменя были связаны с тем, что они различаются по засухоустойчивости и температурному оптимуму. Известно, что у растений ячменя засухоустойчивость выше (Quarrie et al., 1999). В опытах с растениями ячменя мы повышали температуру до 33-34 °С. При такой высокой температуре способность поддерживать транспирацию защищает растение от перегрева. Перегрев – неизбежный отрицательный фактор, сопутствующий засухе. Поэтому способность обеспечивать охлаждение при высокой температуре воздуха – важный компонент засухоустойчивости. Неудивительно, что

этой способностью обладали засухоустойчивые растения ячменя сорта Прерия.

Измерение относительного содержания воды (ОСВ) выявило особенности в реакции растений ячменя на повышение температуры воздуха по сравнению с растениями пшеницы. У растений пшеницы при повышении температуры воздуха ОСВ в конечном итоге поддерживалось на исходном уровне, что достигалось за счет увеличения притока воды из корней. На фоне низкой исходной температуры ОСВ у растений ячменя также не изменялось под влиянием повышения температуры (данные приведены в диссертации). Однако при более высокой исходной температуре ее дальнейшее повышение сопровождалось падением ОСВ как у растений сорта Михайловский, так и у растений сорта Прерия (рис. 10).

Представляло интерес выяснить, каким образом растения сорта Прерия поддерживали устьица открытыми, в то время как оводненность их тканей падала при резком повышении температуры воздуха. Ответ на этот вопрос могут дать данные по осмотическому потенциалу растений.

Как видно из рисунка 11, повышение температуры воздуха приводило к возрастанию осмоляльности клеточного сока листа. Эти данные указывают на то, что на фоне падения водного потенциала (снижение ОСВ) тургор клеток листа (и в том числе устьичных клеток) мог поддерживаться за счет

осморегуляции (Zhang et al., 1999; Serraj R., Sinclair, 2002; Tardieu, 2003). Необходимо все же отметить, что накопление осмотически активных веществ при повышении температуры выше 30 °С происходило также и у тех растений ячменя

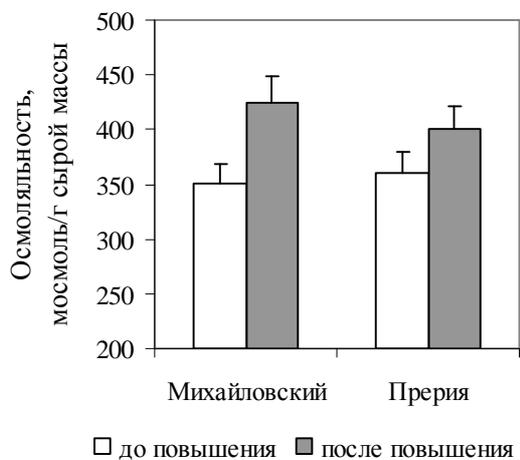


Рис. 11. Осмоляльность клеточного сока листьев растений ячменя через час после повышения температуры воздуха на 3-4° (исходная температура воздуха 30 °С)

поглощения воды, поскольку их выращивали в гидропонической культуре. Представляло интерес выяснить, как они будут реагировать на ограничение способности корней поглощать воду. Это было проверено в экспериментах с удалением части корней.

На первом этапе нашей работы опыты проводили при 24 °С. Как видно из рисунка 12, удаление части корней приводило к увеличению скорости транспирации, которая поддерживалась на высоком уровне в течение всего эксперимента. Поэтому объяснить эту реакцию гидропассивным открытием устьиц (Iwanov, 1928) было невозможно. Подобная «необычная» реакция на удаление корней была обнаружена в нашей лаборатории ранее в экспериментах с пшеницей (Vysotskaya et al., 2004). Было показано, что в единственном оставшемся корне резко возростала гидравлическая проводимость, что обеспечивало высокую скорость притока воды из корней и поддержание оводненности листа на фоне высокого уровня транспирационных потерь (Vysotskaya et al., 2004). Измерение осмотической

(сорт Михайловский), у которых, судя по снижению скорости транспирации, устьица закрывались. Очевидно, способность растений накапливать осмотически активные вещества сама по себе еще не определяет устьичную реакцию, которая зависит от иных регулирующих механизмов (например, накопления и распределения гормонов).

5.2. Реакция растений ячменя на удаление части корней.

При проведении опытов по повышению температуры воздуха растения могли легко компенсировать возросший уровень транспирации, увеличивая скорость

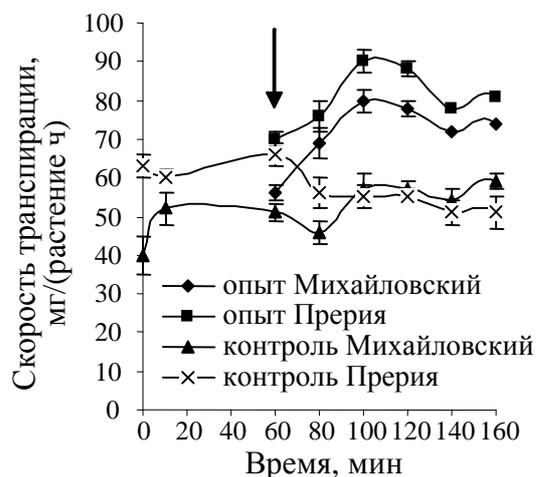


Рис. 12. Скорость транспирации интактных растений ячменя (контроль) и растений с частично удаленными корнями (опыт). Стрелкой обозначен момент удаления корней, t - 24°С

гидравлической проводимости (табл. 4) показало, что у растений ячменя способность единственного оставшегося корня проводить воду также возрастала (примерно на 70 %) при данном воздействии. При этом оба сорта вели себя одинаково. Но, как было видно из предыдущего раздела и по результатам работы с пшеницей (Vysotskaya et al., 2004), реакция растений может меняться при изменении температуры и влажности. Поэтому последующие эксперименты по удалению корней проводили при более высокой температуре (29 °С).

Как видно из рисунка 13, на фоне более высокой температуры удаление корней растений сорта Прерия сначала также приводило к возрастанию транспирации. Однако затем (через 40 мин) она снижалась до уровня интактных растений. При этом у растений сорта Михайловский сохранялся повышенный уровень транспирации на протяжении всего наблюдения (в полтора раза выше, чем у интактных растений).

Таблица 4.

Гидравлическая проводимость корней [мг/(ч МПа г сырой массы корня)] интактных растений ячменя (контроль) и после удаления зародышевых корней кроме одного (опыт) (n=7)

	Контроль	Опыт
Михайловский	201±32	359±29
Прерия	313±41	535±56

Результаты исследования реакции растений ячменя на повышение температуры воздуха показали (см. предыдущий раздел), что именно растения

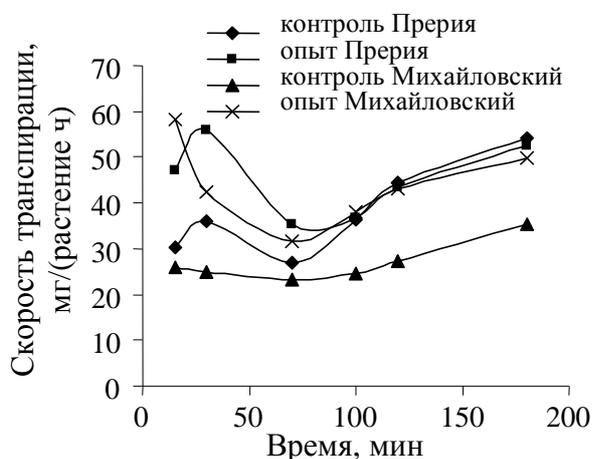


Рис. 13. Скорость транспирации интактных растений ячменя сортов Михайловский и Прерия (контроль) и растений с частично удаленными корнями (опыт). Удаление корней – 0 мин, t – 29 °С

ячменя сорта Прерия сохраняли высокий уровень транспирации, в то время как у растений сорта Михайловский она снижалась при понижении влажности воздуха. При воздействии на корень обнаружена обратная закономерность: на фоне повышенной температуры воздуха более высокий уровень транспирации был у растений сорта Михайловский. Создается впечатление, что засухоустойчивые растения сорта Прерия более адекватно реагировали на факторы воздушной среды и среды корнеобитания: в отсутствие проблем с поглощением воды растения поддерживали высокий уровень транспирации при возрастании воздушной засухи, что обеспечивало им возможность охлаждения при действии высоких температур. Но они также реагировали на доступность воды в среде корнеобитания. При

возникновении проблем с поглощением воды растения сорта Прерия закрывали устьица, что позволяло им экономить воду.

5.3. Реакция растений ячменя на засоление

Из результатов, представленных в предыдущем разделе следует, что характер регуляции водного баланса у растений ячменя менялся в зависимости от температуры и способности корней поглощать воду. Более засухоустойчивые растения сорта Прерия поддерживали высокий уровень транспирации в условиях возрастающей воздушной засухи, в то время как менее засухоустойчивые растения сорта Михайловский в этих условиях снижали уровень транспирации. Но те же растения сорта Прерия в условиях начинающейся воздушной засухи реагировали на снижение способности их корней поглощать воду, закрывая устьица. При этом растения сорта Михайловский сохраняли высокий уровень транспирации даже с редуцированной корневой системой, вероятно, вследствие того, что они менее чувствительны к ограничению поступления воды из корня, в результате чего мог наступить дисбаланс между поглощением и потерей воды в условиях воздушной засухи.

Таким образом, нами были обнаружены различия в способности растений ячменя реагировать на изменение условий в воздушной среде и в области корней. Представляло интерес сравнить их устьичную реакцию на воздушную и почвенную засуху. Уменьшение доступности воды в питательном растворе создавали путем добавления соли. Этот выбор связан с тем, что присутствие повышенной концентрации ионов в питательной среде снижает ее водный

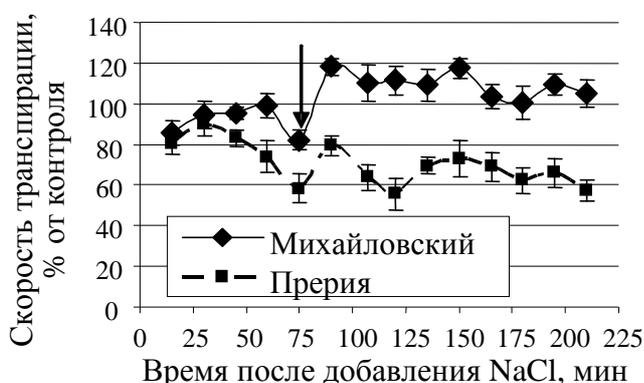


Рис. 14. Скорость транспирации растений ячменя на питательном растворе, содержащем NaCl, % от контроля (контроль – растения на питательном растворе, не содержащем NaCl). Добавление соли – 0 мин, время повышения температуры обозначено стрелкой.

потенциал и растения начинают испытывать дефицит воды (Neumann, 1997). При кратковременном воздействии засоления токсичное действие поглощенных ионов проявляется в меньшей степени (Munns, 1993). От традиционных горшочных экспериментов с прекращением полива мы отказались, поскольку они не давали быстрого гидравлического сигнала - слишком медленно происходило падение водного потенциала почвы. Изучение реакции растений разных сортов

ячменя на засоление (100 мМ NaCl) проводили при 30 °С. После добавления хлорида натрия температуру повышали на 3-4°. Концентрация соли была выбрана на основе предварительных опытов (Fricke et al., 2004; Ахиярова и др., 2005).

Внесение соли в питательный раствор (водный потенциал снижался до $-0,65$ МПа) вызывало снижение транспирации у растений обоих сортов, но оно было более выражено у растений сорта Прерия, что говорит о том, что их устьичная проводимость также снижалась в большей степени (рис. 14). После повышения температуры реакция растений разных сортов стала контрастной. Транспирация оставалась низкой у растений сорта Прерия, но возросла у растений сорта Михайловский.

Таким образом, «почвенная засуха», которую мы имитировали, добавляя соль в питательный раствор, вызывала снижение транспирации у растений засухоустойчивого сорта ячменя, в то время как у более чувствительного к засухе сорта транспирация оставалась почти все время эксперимента на уровне контроля. Эта реакция была диаметрально противоположной той, которую мы наблюдали при действии воздушной засухи на фоне оптимального обеспечения растений влагой в области корней. В отсутствие засоления снижение влажности воздуха повышало транспирацию у растений сорта Прерия и снижало – у растений сорта Михайловский. Растения более засухоустойчивого сорта реагировали на высокую температуру воздуха и ее дальнейшее повышение и поддерживали высокий уровень транспирации, необходимый в этих условиях для охлаждения. Но они также реагировали на доступность воды в области корней, и ее снижение вызывало падение скорости транспирации.

Интересно то, что на фоне высокой температуры и засоления реакция растений ячменя на дальнейшее повышение температуры была аналогичной реакции растений пшеницы на фоне относительно низкой исходной температуры: более засухоустойчивые растения закрывали устьица в ответ на нагрев воздуха, а у более влаголюбивых устьичная проводимость повышалась. Таким образом, для того, чтобы получить аналогичную транспирационную реакцию на повышение температуры воздуха у растений пшеницы и ячменя, их надо было поместить в разные исходные условия: растения пшеницы выращивать при относительно низкой температуре в отсутствие почвенной засухи, а растения ячменя – при более высокой и на фоне начинающейся почвенной засухи. Не исключено, что эти видовые особенности были связаны с тем, что растения пшеницы лучше растут при более низкой температуре, чем растения ячменя, которые также отличаются от растений пшеницы более высокой засухоустойчивостью (Quarrie et al., 1999).

Заключение

Анализ данных литературы и наших собственных результатов свидетельствует о способности растений сохранять баланс между притоком воды из корней и ее транспирационными потерями в условиях нарастания дефицита воды в окружающей среде. Это достигается как за счет снижения устьичной проводимости параллельно со снижением доступности воды для корней, так и за

счет повышения гидравлической проводимости в соответствии с возросшим уровнем транспирации. И в том, и в другом случае очевидна роль АБК как в регуляции устьичной, так и гидравлической проводимости. Нам удалось показать, что в отличие от растений кукурузы растения пшеницы обладают низкой способностью поглощать экзогенную АБК. Проведенное нами измерение потока АБК из побега подтвердило ранее высказанное предположение (Фархутдинов, 2005), что источником накопления этого гормона при повышении температуры воздуха является его приток из побега по флоэме.

В литературе выделяют несколько последовательных стадий в реакции растений на уменьшение количества доступной воды в почве: на первой стадии растения справляются с задачей обеспечения себя водой и транспирация не меняется, а на второй – снижение поступления воды из корней компенсируется снижением устьичной проводимости и ограничением транспирационных потерь (Serraj, Sinclair, 2002). Полученные нами результаты свидетельствуют, что реакция растений некоторых сортов и видов не вписывается в такую схему. В условиях водной культуры, т.е. высокой доступности воды для корней, снижение влажности воздуха вызывало у одних растений снижение устьичной проводимости, а у других, ее увеличение. Кроме того, реакция растений менялась в зависимости от температуры воздуха. Результаты наших исследований доказывают, что способ поддержания водного баланса, который реализуется растением, зависит не только от почвенной, но и воздушной засухи, а также от сочетания этих воздействий.

Из наших данных следует, что для оценки засухоустойчивости растений по их устьичной реакции необходимо учитывать условия, в которых произрастают растения: температуру, влажность воздуха, уровень водного потенциала питательного раствора и их изменение в процессе эксперимента. Устьичная реакция растений может быть использована в качестве признака для предварительной оценки засухоустойчивости, но с учетом особенностей регуляции водного обмена каждого вида. Очевидно, что проблема остается актуальной для дальнейшего изучения.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что при повышении температуры воздуха накопление АБК в корнях растений пшеницы сорта Безенчукская 139 является следствием увеличения притока гормона из побега в корень по флоэме.
2. Обнаружено, что в результате экспозиции растений пшеницы на питательном растворе, содержащем АБК в концентрации, вызывающей повышение гидравлической проводимости, содержание гормона в корнях возросло вдвое, что соответствует уровню накопления эндогенной АБК в корнях растений при нагревании воздуха. Тем самым подтверждено участие АБК в обнаруженном ранее повышении гидравлической проводимости корней при этом воздействии.
3. Установлено, что подавление флоэмного транспорта у растений пшеницы при нагревании воздуха нарушает распределение АБК между побегом и корнем, приводит к накоплению АБК в листьях (а не в корнях) и соответственно изменяет реакцию растений на нагрев воздуха: вызывает закрытие устьиц, а не увеличение гидравлической проводимости.
4. Сортовые различия устьичной реакции растений пшеницы и ячменя на нагревание воздуха зависят от температуры до воздействия:
 - (а) при относительно низкой температуре (21 °С) у растений пшеницы засухоустойчивого сорта Казахстанский 10 устьичная проводимость снижалась, а у влаголюбивого сорта Ирень – увеличивалась; у растений ячменя при 21-25 °С различий между сортами обнаружить не удалось;
 - (б) при 30 °С проявлялись различия между сортами ячменя: у растений более засухоустойчивого сорта Прерия транспирация возросла, а у влаголюбивого – снижалась.
5. Выявлено, что растения засухоустойчивого сорта ячменя Прерия по сравнению с сортом Михайловский отличаются повышенной чувствительностью к корневым стрессам (удаление корней, засоление), что проявляется в быстром снижении транспирации.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Иванов Е.А., Фархутдинов Р.Г., Веселов Д.С., Золотов А.Л., Никонов В.И., Трапезников В.К., Фаизов Р.Г., Кудоярова Г.Р. Изменение устьичной проводимости растений разных сортов яровой мягкой пшеницы на увеличение дефицита воды в воздухе как диагностический признак в селекции на засухоустойчивость. Сельскохозяйственная биология. 2007, № 1. С. 72-78.
2. Кудоярова Г.Р., Веселов Д.С., Фаизов Р.Г., Веселова С.В., Иванов Е.А., Фархутдинов Р.Г. Реакция устьиц на изменение температуры и влажности воздуха

у растений сортов пшеницы, районированных в контрастных климатических условиях. Физиология растений. 2007, №1, Т. 54. С. 54-58.

3. Фархутдинов Р.Г., Фаизов Р.Г., Высоцкая Л.Б., Шарипова Г.В., Веселов Д.С., Кудоярова Г.Р. Устьичная реакция на дефицит воды у растений ячменя, рекомендованных к районированию в контрастных климатических условиях. Материалы 6-ой международной конференции «Современная физиология растений: от молекул до экосистем», 18-24 июня 2007г., г. Сыктывкар, .2007. С. 406-408.

Автор выражает искреннюю благодарность своему научному руководителю к.б.н. Л.Б. Высоцкой за постоянную помощь на всех этапах выполнения работы, благодарит за координацию исследований и ценные консультации д.б.н., профессора Г.Р. Кудоярову, выражает особую признательность д.б.н. Р.Г. Фархутдинову за обсуждение результатов исследований, к.б.н. С.В. Веселовой - за помощь в проведении экспериментов, а также всем сотрудникам лаборатории физиологии растений Института биологии УНЦ РАН за всестороннюю поддержку.