

УДК 581.1

**ИЗМЕНЕНИЯ ВОДНОГО РЕЖИМА ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ
ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОМ ГИПЕРТЕРМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ**

© 2013 г.

В.П. Французова², Л.Н. Олюнина¹, А.П. Веселов¹¹Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского²Нижегородская государственная медицинская академия

vpfrantsuzova@rambler.ru

Поступила в редакцию 30.11.2012

Рассмотрено действие кратковременного теплового шока на оводненность, водный потенциал, содержание пролина и проницаемость плазматической мембраны в побегах пшеницы. Показано снижение относительного содержания воды и нарастание водного дефицита, несмотря на аккумуляцию пролина в процессе прогрева. При действии гипертермии происходило увеличение водного потенциала, что коррелировало с изменением проницаемости мембраны для электролитов.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., гипертермия, водный обмен, пролин, проницаемость плазматической мембраны.

Введение

Регулирование гомеостаза растения при действии стрессора определяет формирование устойчивости к действию стрессирующего фактора. Для адаптации к гипертермическому воздействию важны изменения восприимчивых к условиям внешней среды физиологических процессов, нарушение которых приведет к катастрофическим для организма последствиям [1]. Показано, что гипертермия вызывает быструю реакцию водного обмена – дисбаланс между потерей воды и ее поступлением в побеги. В последние годы большой интерес привлекают механизмы адаптивных перестроек при возникновении временного дефицита воды в растениях при тепловом шоке [2, 3].

Установлено, что состояние воды влияет на функциональные характеристики мембран растительных тканей, подвергнутых внешним воздействиям [4]. Такие изменения при действии теплового шока (ТШ) вызывают выход электролитов из клеток через поврежденные мембраны, что используется для оценки теплоустойчивости растений [5, 6]. Исследование модификаций водного режима и проницаемости биомембран позволяет по-новому подойти к изучению водного обмена в связи с термоустойчивостью растений.

Экспериментальная часть

Гипертермическому воздействию (42°C, время действия 5–60 мин) подвергали 5–6-дневные проростки яровой пшеницы (*Triticum*

aestivum L.) сорта «Московская-35». В качестве контроля служили проростки пшеницы, не подвергнутые ТШ. Содержание воды (СВ), массу насыщения ($m_{\text{нас}}$), относительное содержание воды (ОСВ) определяли по методу A. Pardossi et al. [7]. Водный дефицит листа (ВДЛ) рассчитывали согласно рекомендациям J. Flexas et al. [8]. Измерение водного потенциала (Ψв) осуществляли с помощью камеры давления (pump-up pressure chamber «The Bomb», USA) согласно методике E. Shanckel [9]. Определенные концентрации пролина проводили по методу L.S. Bates et al. [10]. Термоустойчивость растений оценивали по изменению проницаемости клеточных мембран исследуемых растений. Навеску промывали в дистиллированной воде, погружали в колбу с прогретой до 30°C дистиллированной водой и выдерживали в течение 3 ч при той же температуре и постоянном встряхивании. Электропроводность раствора после инкубации (C_1) измеряли с помощью контактного малоинерционного кондуктометра «Марк-601». Полный выход электролитов (C_2) определяли по электропроводности той же вытяжки после разрушения растительной ткани кипячением в течение 15 минут. Выход электролитов (С) рассчитывали в процентах от полного выхода по формуле: $C = (C_1/C_2) \times 100\%$. Индекс стабильности мембран (ИСМ) рассчитывали по формуле: $ИСМ = [1 - (C_1/C_2)] \times 100\%$. При статистической обработке результатов использовали *t*-критерий Стьюдента, корреляционную зависимость оценивали по критерию Пирсона с помощью программного обеспечения *Microsoft Excel 2007* и *Primer of Biostatistics 4.03* [11].

Результаты и их обсуждение

При резком повышении температуры происходит нарушение баланса воды в растительном организме. Устойчивость растений к гипертермическому воздействию определяется их способностью поддерживать водный статус за счет изменения состояния воды, степени водоудерживающей способности и подвижности воды [3, 12, 13].

Для характеристики водного обмена исследовали динамику СВ и ВДЛ проростков пшеницы. Показано, что при действии высокой температуры в побегах происходит незначительное снижение СВ и увеличивается водный дефицит (табл. 1). Уменьшение оводненности тканей может происходить при увеличении испарения воды в процессе транспирации, причем растения по-разному регулируют водный обмен при действии гипертермии в зависимости от освещенности и влажности воздуха.

Установлено, что гидравлическая проводимость при ТШ изменяется, усиление транспирации компенсируется падением гидравлического сопротивления [3]. Предполагается, что

способность увеличивать гидравлическую проводимость компенсирует возросшие потери при транспирации и сохраняет устьица открытыми, поддерживая фотосинтез и обеспечивая таким образом урожайность растений при условии поступления влаги в корни [3]. По данным D.T. Clarkson et al., увеличение гидравлической проводимости под влиянием повышенной температуры связано с изменением проницаемости мембран и сопровождается активацией водных каналов [14].

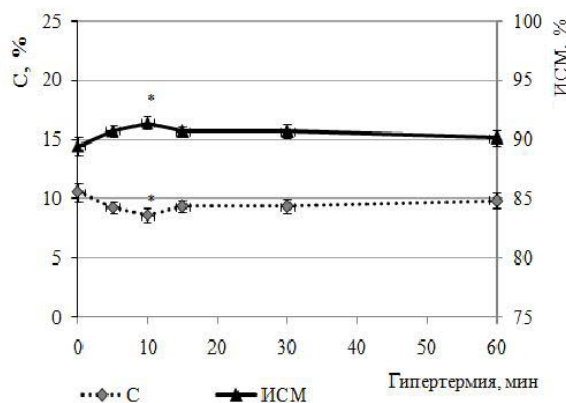
В наших экспериментах при кратковременном гипертермическом воздействии (5–15 мин) Чв довольно резко возрастал (табл. 1), что свидетельствует об активации поступления воды из корней в побеги проростков и, соответственно, повышении оводненности растений. Определение состояния мембраны (рисунок) по выходу электролитов с помощью кондуктометрического метода не выявило значительного изменения проницаемости мембраны даже через час прогрева. Индекс стабильности мембраны оставался высоким в течение всего времени гипертермического воздействия (рисунок) и положительно коррелировал с величиной водного по-

Таблица 1

Изменения оводненности, количества пролина и полного выхода электролитов через плазматическую мембрану побегов пшеницы при гипертермическом воздействии (42°C)

Время воздействия, мин	ОСВ, %	СВ, %	$m_{нас}$, %	ВДЛ, %	Чв, бар	C_2 , мкСм/см ²	Пролин, мкг / г сырой массы
0	91.73± ±1.22	88.61± ±0.07	8.07± ±1.30	7.40± ±1.10	-7.20± ±0.4	128.79± ±2.00	155.23±8.22
5	92.35± ±0.96	88.55± ±0.18	7.39± ±1.00	6.84± ±0.87	-2.96± ±0.2 *	129.10± ±1.75	248.10±6.36*
15	90.33± ±0.38 *	88.12± ±0.09 *	9.44± ±0.42*	8.63± ±0.35 *	-2.77± ±0.1 *	128.87± ±1.73	245.30±8.07*
30	91.38± ±0.65 *	88.39± ±0.11*	8.35± ±0.68*	7.70± ±0.58*	-3.55± ±0.1 *	132.68± ±2.16 *	203.86±6.41
60	87.76± ±0.74*	88.16± ±0.20 *	12.33± ±0.83*	10.95± ±0.67*	-5.00± ±0.4	129.95± ±1.85	411.79±12.45*

* Достоверное различие по сравнению с контролем при $p \leq 0.05$.



* Достоверное различие по сравнению с контролем $p \leq 0.05$.

Рис. Изменения индекса стабильности мембран (ИСМ) и выхода электролитов через мембрану (С) побегов пшеницы при действии гипертермии

Таблица 2

Корреляция изменений индекса стабильности мембран клеток с показателями оводненности, количества пролина и полного выхода электролитов через плазматическую мембрану в побегах пшеницы при гипертермическом воздействии

Коэффициент корреляции, <i>r</i>	ОСВ, %	СВ, %	$m_{\text{нас}}$, %	ВДЛ, %	Ψв, бар	C_2 , мкСм/см ²	Пролин, мкг/г сырой массы
		0.100	-0.394	-0.122	-0.108	0.833*	0.649

* Достоверное различие по сравнению с контролем при $p \leq 0.05$.

тенциала (табл. 2). Таким образом, высокая температура оказывает существенное влияние на скорость транспорта воды по растению. В ряде публикаций показано, что температура модифицирует внутриклеточный уровень абсцизовой кислоты (АБК) в организме; повышение уровня АБК в клетках приводит к увеличению активности водных каналов и усилению водопоглотительной способности корней растений за счет активации водного пути от клетки к клетке [15, 16].

Поддержание водного статуса у растений при различных видах воздействия может осуществляться с помощью аккумуляции осмолитов, например аминокислоты пролина [17–19]. В данной работе определено содержание пролина в побегах проростков пшеницы в норме и при действии гипертермии (табл. 1). Высокая температура вызывала двухфазное увеличение концентрации пролина: при кратковременном воздействии (5–15 мин) и при увеличении экспозиции (60 мин гипертермии). Накопление пролина может регулироваться АБК, ионами Ca^{2+} [19, 20]. Показано, что Ca^{2+} и ряд других неорганических ионов модифицируют активность пролиндегидрогеназы – фермента, контролирующего катаболизм этой аминокислоты [18, 20]. Накоплению осмолитов сопутствует изменение способности клеток поглощать воду. В настоящей работе снижение ОСВ и увеличение $m_{\text{нас}}$ побегов проростков пшеницы при гипертермии происходило одновременно с накоплением электролитов (C_2) в клетках побегов исследуемых проростков (табл. 1). Выявленное снижение ОСВ проростков пшеницы могло иметь решающее значение для включения адаптационных механизмов, в частности одной из универсальных реакций на стресс-воздействие – торможение роста. Использование высокочувствительного датчика для регистрации роста показало [3, 21], что торможение роста у побегов зеленых проростков пшеницы наблюдается сразу после повышения температуры. Авторы

связывают уменьшение скорости роста с уменьшением ОСВ, при восстановлении роста происходило увеличение данного параметра [3, 21]. Таким образом, изменение водного режима при гипертермии имеет значение для адаптации растений к температурному воздействию и, возможно, для возникновения термоустойчивости, что подтверждается нашими данными по сохранению стабильности мембран побегов пшеницы (рисунок). В настоящее время доказана зависимость между проницаемостью мембран, потерей растениями электролитов и их устойчивостью. Степень утечки электролитов у чувствительных растений существенно выше по сравнению с толерантными к стрессирующим воздействиям [22–25].

Заключение

В целом, можно сделать вывод, что изменения водопоглотительной способности клеток и активация транспорта воды в растениях пшеницы способствуют поддержанию высокой интенсивности водообмена при гипертермическом воздействии. Однако аккумуляция осмолитов и сохранение избирательной проницаемости плазматической мембраны даже в течение часа прогрева сопровождаются нарастанием водного дефицита побегов пшеницы. Возможно, это связано с защитным торможением роста побегов пшеницы при стрессирующем гипертермическом действии. Такая реакция на высокотемпературное воздействие должна стать предметом дальнейших исследований.

Список литературы

1. Веселов А.П. Регуляторные принципы формирования ответных реакций при тепловом шоке растений // Вестник ННГУ. Серия Биология. Материалы выездной сессии ОФР РАН по проблемам биоэлектротрогенеза и адаптации у растений (10–12 октября 2000 г.). 2001. С. 70–74.

2. Кудоярова Г.Р., Дедов А.В., Фархутдинов Р.Г., Веселова С.В. Передача сигналов и быстрая стрессовая реакция растений // Вестник ННГУ. Серия Биология. Материалы выездной сессии ОФР РАН по проблемам биоэлектротрогенеза и адаптации у растений (10–12 октября 2000 г.). 2001. С. 85–87.
3. 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 разных сортов пшеницы, районированных в контрастных климатических условиях // Физиология растений. 2007. Т. 54. № 1. С. 54–58.
4. Швалева А.Л. Состояние воды и его влияние на функциональные характеристики мембран в семенах пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и проростках при различных физиологических условиях. Дис. ... д-ра биол. наук. Москва: МГУ, 2001. 195 с.
5. Blum A., Klueva N., Nguyen H.T. Wheat cellular thermotolerance is related to yield under heat stress // Euphytica. 2001. V. 117. P. 117–123.
6. Wahid A., Gelani S., Ashraf M., Foolad M.R. Heat tolerance in plants: An overview // Environ. Exp. Bot. 2007. V. 61. P. 199–223.
7. Pardossi A., Vernieri P., Tognoni F. Involvement of abscisic acid in regulating water status in *Phaseolus vulgaris* L. during chilling // Plant Physiol. 1992. V. 100. P. 1243–1250.
8. Flexas J., Badger M., Chow W.S., Medrano H., Osmond C.B. Analysis of the relative increase in photosynthetic O₂ uptake when photosynthesis in grapevine leaves is inhibited following low night temperatures and/or water stress // Plant Physiol. 1999. V. 121. P. 675–684.
9. Shanckel E. The pressure chamber // University of California. 2004. P. 34.
10. Bates L.S., Walebun R.P., Feeare J.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant and Soil. 1973. V. 39. № 1. P. 205–207.
11. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
12. Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений. М.: Наука, 1982. 280 с.
13. Шматько И.Г., Григорюк И.А. Реакция растений на водный и высокотемпературный стрессы // Физиология и биохимия культурных растений. 1992. Т. 24. № 1. С. 3–14.
14. Clarkson D.T., Carvajal M., Henzler T., Waterhouse R.N. Root hydraulic conductance: diurnal aquaporin expression and the effects of nutrient stress // J. Exp. Bot. 2000. V. 51. P. 61–70.
15. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. 160 с.
16. Жолкевич В.Н. Транспорт воды в растение и его эндогенная регуляция // LXI Тимирязевское чтение. М.: Наука, 2001. 31 с.
17. Кузнецов Вл.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. 1999. Т. 46. № 2. С. 321–336.
18. Hare P.D., Cress W.A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants // Plant growth regulation. 2003. V. 21. № 2. P. 79–102.
19. Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е. Ответ растений на гипертермию: молекулярно-клеточные аспекты // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія. 2009. № 1 (16). С. 19–38.
20. Садыгов С.Т., Акбулат М., Ахмедов В. Роль Ca²⁺ в передаче стрессовых сигналов у проростков пшеницы // Биохимия. 2002. Т. 67. № 4. С. 587–594.
21. Веселова С.В. Гормональная регуляция водного обмена и роста проростков пшеницы при изменении температуры. Автореферат дис. ... канд. биол. наук. Уфа: Институт биологии УНЦ РАН, 2003. 22 с.
22. Marcum K.B. Cell membrane thermostability and whole-plant heat tolerance of kentucky bluegrass // Crop science. 1998. V. 38. P. 1214–1218.
23. Cekic C., Paulsen G.M. Evaluation of a ninhydrin procedure for measuring membrane thermostability of wheat // Crop science. 2001. V. 41. P. 1351–1355.
24. Ibrahim A.M.H., Quick J.S. Heritability of heat tolerance in winter and spring wheat // Crop science. 2001. V. 41. P. 1401–1405.
25. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2002. 244 с.

THE CHANGES OF WATER REGIME OF WHEAT SEEDLINGS FOLLOWING BRIEF HYPERTHERMIA

V.P. Frantsuzova, L.N. Olyunina, A.P. Veselov

The effect of a short-term heat shock on the water content, water potential, proline concentration and plasma membrane permeability in wheat seedlings has been studied. Despite the proline accumulation during the heating, there was a decrease in the relative water content and an increase in water deficit. The increased water potential correlated with the electrolyte leakage through the plasma membranes under the influence of hyperthermia.

Keywords: *Triticum aestivum* L., hyperthermia, water metabolism, proline, plasma membrane permeability.