

УДК 581.1

## ВЛИЯНИЕ ЛОКАЛЬНОГО ОХЛАЖДЕНИЯ ПРОРОСТКОВ ОГУРЦА И ПШЕНИЦЫ НА РАЗЛИЧНЫЕ ВИДЫ УСТОЙЧИВОСТИ ЛИСТА И КОРНЯ

© 2001 г. Н. И. Балагурова, Т. В. Акимова, А. Ф. Титов

Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск

Поступила в редакцию 28.09.99 г.

На проростках холодостойкого (*Triticum aestivum* L.) и холодочувствительного (*Cucumis sativus* L.) видов растений изучена динамика различных видов устойчивости клеток листа и корня при локальном воздействии (7 ч) низкой температуры (2°C для пшеницы и 10°C для огурца) на корень или побег. При локальном охлаждении листа его холодо- и солеустойчивость повышались, а теплоустойчивость не изменялась, тогда как у локально охлажденного корня холодоустойчивость незначительно возрастала к концу наблюдений, а тепло- и солеустойчивость снижались. Охлаждение побега не влияло на холодо- и теплоустойчивость клеток корня, но вызывало снижение их солеустойчивости, а охлаждение корня индуцировало у листа, находившегося при обычной температуре, увеличение всех изученных видов устойчивости. Обсуждается возможность неспецифического изменения устойчивости, обусловленного метаболическими перестройками, индуцируемыми сигналом, передающимся по растению в органы, пространственно удаленные от охлаждаемых.

*Triticum aestivum* – *Cucumis sativus* – локальное охлаждение – устойчивость – лист – корень

Изучение устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды привело к возникновению представления об их специфической и неспецифической реакции на факторы различной природы [1; 2, с. 72; 3; 4, с. 38; 5]. Его суть заключается в том, что при действии на растение какого-либо одного стресс-фактора повышается устойчивость не только к нему, но и к другим, имеющим отличную от него природу [6; 7, с. 89; 8]. Вместе с тем известно, что действующие только на корневую систему растений тяжелые металлы и засоление повышают уровень температурной устойчивости листьев [8, 9]. Более того, даже кратковременное раздражение корней хлоридом калия, как это установлено недавно [10], модифицирует холодо- и теплоустойчивость клеток листа. Таким образом, локальное действие на корень химических факторов вызывает неспецифическое повышение устойчивости листьев. В отношении температурного фактора неспецифичность реакции клеток листа и корня установлена в экспериментах с локальным прогревом растений [11].

Цель данной работы заключалась в выявлении возможности неспецифического изменения устойчивости органов растения, пространственно удаленных от места воздействия неблагоприятной низкой температуры. Такого рода данные в известной нам литературе малочисленны, несмотря на то, что они важны не только для понимания механизмов формирования повышенной устойчивости органов при поступлении в них сигнала о действии стрессора на пространственно удаленные части растения, но и для понимания того, как осуществляется взаимодействие между отдельными органами растения в условиях стресса. В связи с этим в задачу работы входило изучение влияния локального охлаждения отдельных частей растения (корня, побега) на динамику различных видов устойчивости у клеток охлаждаемых и неохлаждаемых органов в начальный период действия температуры.

### МЕТОДИКА

Опыты проводили с проростками холодостойкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Мироновская 808 и холодочувствительного огурца (*Cucumis sativus* L.) сорта Алма-Атинский 1, выращенными в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе Кнопа (рН 6.4) в камере искусственного климата при температуре воздуха 25°C, его относительной влажности 60–70%, ос-

Сокращения: ЛОД<sub>50</sub> – величина осмотического давления солевого раствора, вызывающего гибель 50% клеток, ЛТ<sub>50</sub> – температура гибели 50% клеток.

Адрес для корреспонденции: Балагурова Нина Ивановна, 185610 Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11, Институт биологии Карельского ЦН РАН. Факс: 07(8142)77-98-10; электронная почта: akimova@post.krc.karelia.ru

вещности около 10 клк и 14-часовом световом дне.

Надземную часть или корневую систему 7-дневных проростков в течение 7 ч подвергали действию низкой температуры (2°C в опытах с пшеницей и 10°C в опытах с огурцом). Избранные температуры являются оптимальными для закаливания целых проростков [7, с. 13]. Неохлаждаемые части растения находились при 25°C. Для поддержания заданной температуры в зоне корневой системы использовали термоэлектрический термостат (ТЖР – 02/–20, “Интерм”, Россия), который устанавливали в камере искусственного климата, позволяющей поддерживать нужную температуру воздуха. Охлаждение осуществляли при освещенности 10 клк и относительной влажности воздуха 60–70%.

Для оценки устойчивости использовали семядольные листья и главный корень проростка огурца, а также первый лист и наиболее длинный корень проростка пшеницы. Отрезки корня для анализа брали из средней его части, исключая примерно по 1.5–2 см от верхушки и основания.

Холодо- и теплоустойчивость оценивали по температуре (ЛТ<sub>50</sub>), вызывающей гибель 50% палисадных клеток листовых высевок (площадью около 0.3 см<sup>2</sup>) или эпидермиса корневых отрезков (длиной около 0.5 см) после их промораживания в течение 5 мин в термоэлектрическом термостате (ТЖР – 02/–20) или прогрева в водном термостате Геплера (ИБ КарНЦ РАН) при последовательном изменении температуры с интервалом 0.4°C. Заданную температуру поддерживали с точностью ±0.1°C. Критерием гибели клеток листа служила коагуляция цитоплазмы, а клеток корня – потеря способности цитоплазмы к плазмолизу (в качестве плазмолитика использовали 1 М раствор сахарозы).

Солеустойчивость клеток оценивали по величине осмотического давления раствора NaCl (ЛОД<sub>50</sub>), вызывающего гибель 50% палисадных клеток листа или эпидермиса корня. Для этого высеочки помещали в ряд растворов соли, отличающихся между собой по осмотическому давлению на 0.5 атм. По истечении 1 сут оценивали жизнеспособность клеток листа и корня, используя те же критерии, что и при определении температурной устойчивости.

Для микроскопирования высевок листа и корня применяли световой микроскоп МБИ-15 (Россия) с объективом водной иммерсии АПО ВИ (40x и 70x).

На рисунках приведены средние арифметические из 4 независимых экспериментов (для холодо- и теплоустойчивости при охлаждении корня огурца – из 5 независимых экспериментов), проведенных в 6-кратной биологической повторности и их стандартные ошибки (бары на рисунках указаны

в тех случаях, когда их величина превышала размер символа). Обсуждаются величины, достоверные при  $P \geq 0.95$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Действие низкой температуры на побег по-разному влияет на отдельные виды устойчивости клеток листа и корня. В частности, повышение холодоустойчивости клеток семядольных листьев огурца, отмеченное в течение первого часа действия низкой температуры на побег, сохранялось в ходе всего эксперимента (рис. 1а). При этом их теплоустойчивость почти не изменилась, а солеустойчивость несколько увеличивалась к концу наблюдений. Охлаждение побега существенно не повлияло на холодо- и теплоустойчивость клеток корня, находившегося при 25°C, в то время как их солеустойчивость заметно снижалась. Аналогичные данные получены и на пшенице (рис. 2а). Охлаждение ее побегов приводило через 3 ч к росту холодоустойчивости клеток листа. В то же время их теплоустойчивость оставалась на постоянном уровне, тогда как солеустойчивость повышалась через 1 ч от начала действия холода, но через 3 ч ее уровень снижался до исходного. Холодо- и теплоустойчивость клеток корня пшеницы, не подвергавшегося охлаждению, как и в опытах с огурцом, не изменялись, а их солеустойчивость постепенно снижалась.

Действие температуры 10°C на корень огурца (рис. 1б) одновременно снижало холодо-, тепло- и солеустойчивость его клеток в первый час охлаждения. Однако с увеличением продолжительности охлаждения в их динамике появлялись различия: холодоустойчивость корня постепенно возрастала и превысила исходный уровень, его солеустойчивость продолжала снижаться, а теплоустойчивость в дальнейшем не изменялась, оставаясь ниже исходной. Существенно, что локальное охлаждение корня повлияло на устойчивость клеток листа, который не подвергался такому воздействию и находился в обычных температурных условиях. Так, через 30 мин от его начала наблюдали повышение холодоустойчивости листьев, которое продолжалось с увеличением экспозиции. Солеустойчивость клеток листа при охлаждении корня возрастала в течение первого часа, после чего постепенно снижалась до исходного уровня к концу опыта, а теплоустойчивость несколько увеличивалась только через 7 ч.

Локальное охлаждение (до 2°C) корня пшеницы (рис. 2б) практически не влияло на их холодоустойчивость, тогда как тепло- и солеустойчивость постепенно снижались во время наблюдений. Как и в опытах с огурцом, действие холода только на корень вызывало возрастание всех видов устойчивости клеток листа. В частности, его холодоустойчивость увеличилась уже через 30 мин

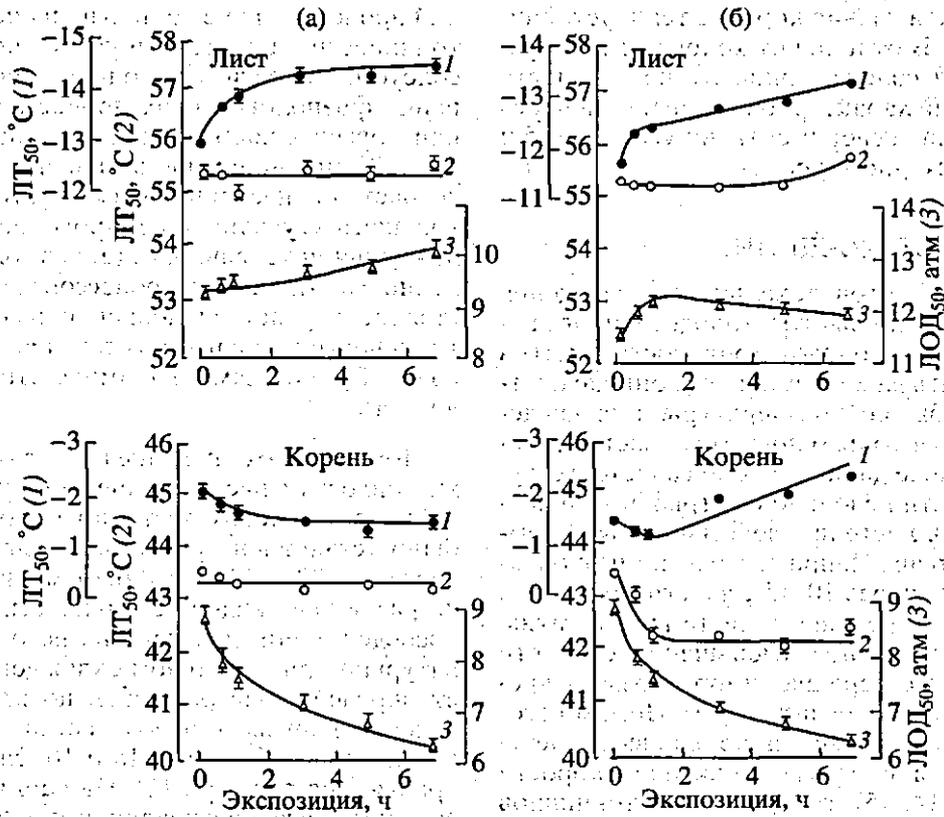


Рис. 1. Влияние охлаждения (10°C) надземной части (а) и корневой системы (б) проростков огурца на динамику холодо- (1), тепло- (2) и солеустойчивости (3) клеток листа и корня.

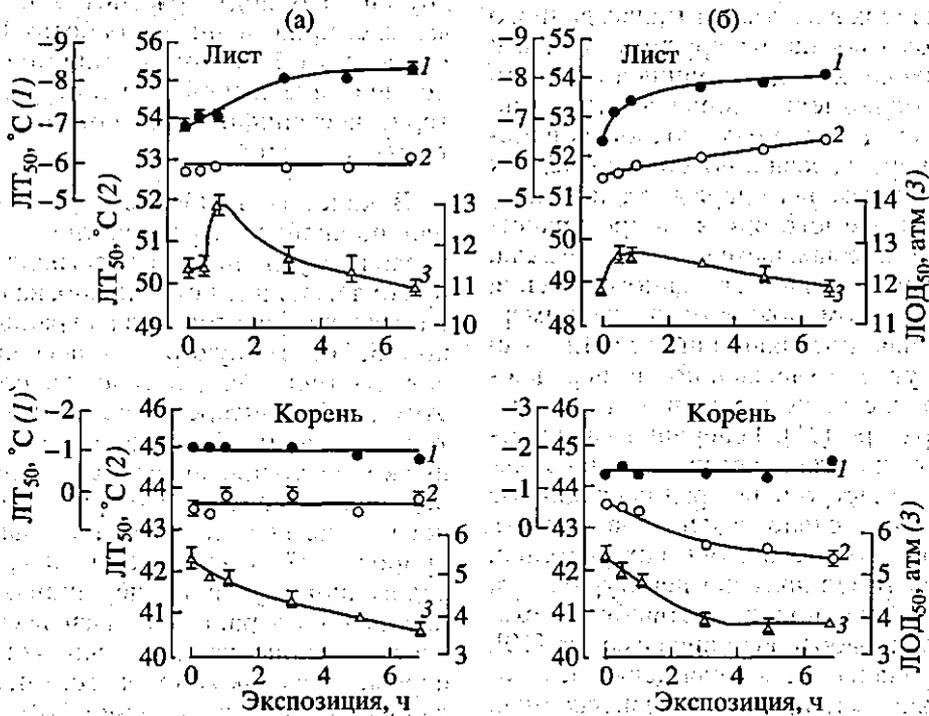


Рис. 2. Влияние охлаждения (2°C) надземной части (а) и корневой системы (б) проростков пшеницы на динамику холодо- (1), тепло- (2) и солеустойчивости (3) клеток листа и корня.

после начала охлаждения корня, а теплоустойчивость через 3 ч. В отличие от холодо- и теплоустойчивости рост солеустойчивости клеток листа носил временный характер: она возростала через 0.5–1 ч от начала эксперимента, но уже через 5 ч снижалась до исходного уровня.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение эффектов локального охлаждения на растения теплолюбивого и холодостойкого видов показало, что холодоустойчивость листьев может возрасти даже тогда, когда они находятся в условиях обычной температуры, а охлаждению подвергается только подземная часть растения. Литературные данные также свидетельствуют о возможности довольно быстрых изменений ряда процессов в листе при действии низкой температуры на корень. Например, в ответ на охлаждение корня уже через 10–15 с зарегистрирована биоэлектрическая реакция в листе [12], а также практически мгновенное уменьшение скорости водного тока в его черешке, и чуть позже – временная активация фотосинтеза [13]. Помимо этого, холодовое воздействие на корень вызывает в течение нескольких минут снижение скорости роста листьев [14, 15], содержания цитокининов [15], а в течение первых часов приводит к временному изменению ряда показателей их водного обмена [16]. Поскольку рост устойчивости прямо или косвенно связан с изменениями многих процессов, происходящих в клетках и тканях данного органа, то наблюдаемое нами и другими авторами [17, 18] повышение холодоустойчивости листа при локальном охлаждении корня является, по всей видимости, следствием ряда подобных изменений. В свою очередь, возникновение последних становится возможным благодаря дистанционной передаче из охлаждаемого органа в непосредственно удаленный неохлаждаемый орган сигнала, о природе которого пока нет единого мнения [19, 20]. Этим сигналом может быть, например, потенциал действия, возникающий в частях растения, подвергнутых охлаждению, и передающийся в те его части, которые находятся при обычной температуре [21]. Генерация распространяющегося потенциала действия дает возможность достаточно быстро через ряд посредников координировать интенсивность и направленность физиологических процессов в органах растения, находящихся при различных температурах. Эта гипотеза может быть проиллюстрирована схемой, приведенной в работе Ретивина с соавт. [10], в которой отображена возможная цепь последовательных (каскадных) процессов, запускаемых потенциалом действия, возникающим при химическом раздражении корня.

Весьма существенно, что в начальный период локального охлаждения корневой системы расте-

ний происходило не только повышение холодоустойчивости листьев, но и увеличение их тепло- и солеустойчивости. Поскольку однотипные изменения физиологических процессов наблюдали и при других локально действующих раздражителях [22], можно предполагать, что они отражают возрастание неспецифической устойчивости клеток листа. С увеличением продолжительности охлаждения интенсивность (а, возможно, и направленность) отдельных процессов и, следовательно, степень их участия в повышении соле- и теплоустойчивости листа изменяется, что, вероятно, приводит к различиям в динамике этих видов устойчивости.

Локальное охлаждение побега (или листа) также приводит к неспецифическому увеличению устойчивости клеток листа, подобно тому, как это было установлено ранее при охлаждении целых растений [23, с. 61; 7, с. 89]. Отметим, что динамика различных видов устойчивости листа при непосредственном действии на него низкой температуры и при локальном охлаждении корня имеет определенные различия, по крайней мере, в течение первых 7 ч воздействия (устойчивость листа: кривая 2 на рис. 1а и 1б, 2а и 2б, а также кривая 3 на рис. 1а и 1б). На наш взгляд, это может быть связано с различиями в ответных реакциях клеток листа, вызванных непосредственным действием на него низкой температуры, с одной стороны, и сигналом из охлаждаемого корня, с другой, что подтверждают экспериментальные данные, приведенные в работах [16, 24]. Тем не менее, для обоих случаев (прямое и опосредованное действие низкой температуры на лист) характерно неспецифическое повышение устойчивости клеток листа.

В качестве наиболее вероятных индукторов или, по крайней мере, участников этого процесса после поступления в лист сигнала из корня, как и при охлаждении листа, можно, на наш взгляд, рассматривать фитогормоны, играющие, как известно [25, 26], важную роль в неспецифическом ответе растений на действие стрессоров. В связи с этим особый интерес вызывают результаты опытов, в которых обнаружены однотипные изменения концентрации ауксинов в тканях листа в течение первых минут после краткосрочного локального действия на корень факторов разной природы [27]. Следует отметить, что на участие эндогенного ауксина в первичных термоадаптивных реакциях растений указывает заметное возрастание концентрации свободных ауксинов в первые часы как холодового, так и теплового закаливания целых растений [28]. Учитывая это, можно предполагать, что не только при общем, но и при локальном охлаждении растений ауксины участвуют в неспецифическом повышении устойчивости листа.

Другим возможным индуктором гормональной природы роста устойчивости клеток листа после поступления в него сигнала об охлаждении пространственно удаленных органов, как и при непосредственном действии температуры на лист, может выступать АБК. С ростом содержания этого фитогормона многие исследователи связывают повышение устойчивости растений в начальный период действия низкой и высокой температуры [29], засоления [29] и других факторов [26]. Существенно, что включение механизмов, посредством которых АБК оказывает протекторное действие на клетки растений, не требует длительного времени. Это, на наш взгляд, особенно важно в условиях локального охлаждения или прогрева, когда возрастает необходимость быстрой координации процессов в органах растения, находящихся в различных температурных условиях.

Реакция клеток корня на локальное охлаждение как у пшеницы, так и у огурца значительно отличалась от реакции клеток листа. Однако причины этих отличий остаются пока неизвестными.

Таким образом, в данной работе установлено, что при локальном действии низкой температуры на растение неспецифические изменения устойчивости происходят и в охлаждаемых органах, и в пространственно удаленных от них. Очевидно, что у последних они обусловлены метаболическими перестройками и индуцируются сигналом, который возникает в охлаждаемом органе и передается в другие части растения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 97-04-49209 и № 98-04-03516).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Удовенко Г.В. Физиологические механизмы адаптации растений к различным экстремальным условиям // Тр. по прикл. ботанике, генетике и селекции. 1979. Т. 64. Вып. 3. С. 5–22.
2. Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений. М.: Наука, 1982. 280 с.
3. Титов А.Ф., Дроздов С.Н., Крищенко С.П., Таланова В.В. О роли специфических и неспецифических реакций в процессах термоадаптации активно вегетирующих растений // Физиология растений. 1983. Т. 30. С. 544–551.
4. Александров В.Я. Реактивность клеток и белки. Л.: Наука, 1985. 313 с.
5. Урманцев Ю.А., Гудсков Н.Л. Проблема специфичности и неспецифичности ответных реакций растений на повреждающие воздействия // Журн. общей биологии. 1986. Т. 47. С. 337–349.
6. Boussiba S., Ritkin A., Richmond A.E. The Role of Abscisic Acid in Cross-Adaptation of Tobacco Plants // Plant Physiol. 1975. V. 56. P. 337–339.
7. Дроздов С.Н., Курец В.К., Титов А.Ф. Терморезистентность активно вегетирующих растений. Л.: Наука, 1984. 168 с.
8. Кузнецов В.В., Хыдыров Б.Т., Рошупкин Б.В., Борисова Н.Н. Общесистемная устойчивость хлопчатника к засолению и высокой температуре: факты и гипотезы // Физиология растений. 1990. Т. 37. С. 987–996.
9. Таланова В.В., Титов А.Ф., Боева Н.П. Реакция растений на ионы свинца и неблагоприятную температуру // Докл. РАСХН. 1996. № 5. С. 5–7.
10. Ретивин В.Г., Опритов В.А., Лобов С.А., Тараканов С.А., Худяков В.А. Модификация устойчивости фотосинтезирующих клеток к охлаждению и прогреву после раздражения корней раствором КСl // Физиология растений. 1999. Т. 46. С. 790–798.
11. Акимова Т.В., Балагурова Н.И., Титов А.Ф. Влияние локального прогрева на тепло-, холодо- и солеустойчивость клеток листа и корня растений // Физиология растений. 1999. Т. 46. С. 119–123.
12. Гунар И.И., Паничкин Л.А. Распространение возбуждения по растению и биоэлектрическая реакция листа на раздражение корня и черешка // Изв. ТСХА. 1967. Вып. 1. С. 142–145.
13. Моторина Н.В., Карманов В.Т., Беликов П.С. Сопряженность интенсивности видимого фотосинтеза с движением воды по растению // Докл. ТСХА. 1965. Вып. 115. Ч. 1. С. 171–176.
14. Sattin M., Seraphin E.S., Dale J.E. The Effect of Root Cooling and the Light-Dark Transition on Growth of Primary Leaves of *Phaseolus vulgaris* L. // J. Exp. Bot. 1990. V. 41. P. 1319–1324.
15. Кудоярова Г.Р., Фархутдинов Р.Г., Митриченко А.Н., Теплова И.Р., Дедов А.В., Веселов С.Ю., Кулаева О.Н. Быстрые изменения скорости роста и содержания цитокининов в надземных органах растений пшеницы в ответ на резкое охлаждение корней // Докл. РАН. 1999. Т. 365. С. 260–262.
16. Musser R.L., Thomas S.A., Kramer P.J. Short and Long Term Effects of Root and Shoot Chilling of Ransom Soybean // Plant Physiol. 1983. V. 73. P. 778–783.
17. Chen T.H.-H., Gusta L.V., Fowler D.B. Freezing Injury and Root Development in Winter Cereals // Plant Physiol. 1983. V. 73. P. 773–777.
18. Limin A.E., Fowler D.B. Cold-Hardiness Response of Sequential Winter Tissue Segments to Differing Temperature Regimes // Crop. Sci. 1985. V. 25. P. 838–843.
19. Ретивин В.Г., Опритов В.А. О роли распространяющихся потенциалов действия в адаптации растений к низким температурам // Докл. РАН. 1993. Т. 331. С. 524–526.
20. Полевой В.В., Танкелюн О.В., Полевой В.В. Быстрая дистанционная передача сигнала о локальном стрессовом воздействии у проростков кукурузы // Физиология растений. 1997. Т. 44. С. 645–651.
21. Ретивин В.Г., Опритов В.А., Федулina С.Б. Преадаптация тканей стебля *Cucurbita pepo* к повреждающему действию низких температур, индуцированная потенциалом действия // Физиология растений. 1997. Т. 44. С. 499–510.