



ТОЛЕРАНТНОСТ НА РАСТЕНИЯТА КЪМ ЗАСУШАВАНЕ И ВИСОКИ ТЕМПЕРАТУРИ – ФИЗИОЛОГИЧНИ МЕХАНИЗМИ И ПОДХОДИ ЗА ПОДБОР НА ТОЛЕРАНТНИ ГЕНОТИПОВЕ
PLANT TOLERANCE TO DROUGHT AND HIGH TEMPERATURES: PHYSIOLOGICAL MECHANISMS AND APPROACHES FOR SCREENING FOR TOLERANT GENOTYPES

Андон Василев*, Златко Златев, Малгожата Берова, Невена Стоева
Andon Vassilev*, Zlatko Zlatev, Malgozata Berova, Nevena Stoeva

Аграрен университет – Пловдив
Agricultural University of Plovdiv

*E-mail: vassilev@au-plovdiv.bg

Резюме

Засушаването и високите температури са сред основните фактори, лимитиращи продуктивността на селскостопанските култури в България, поради което подборът и целенасоченото създаване на толерантни сортове са ключови подходи и фактори за устойчивото земеделие. В настоящия обзор накратко са описани физиологичните механизми, с помощта на които растенията се приспособяват към посочените стресови фактори, както и подходите за подбор на толерантни генотипове. Показано е подходящо научно оборудване за скринингови изследвания.

Abstract

Both drought and high temperatures are among the main factors limiting crop productivity in Bulgaria, therefore screening and selection of tolerant genotypes is a key approach for sustainable agriculture. In the present review-paper the physiological mechanisms used by plants to cope with the shown stress factors are described briefly as well as approaches for screening for tolerant genotypes. Suitable scientific equipment for screening investigations is also indicated.

Ключови думи: засушаване, високи температури, стрес, толерантност, механизми, научно оборудване.

Key words: drought, high temperatures, stress, tolerance, mechanisms, scientific equipment.

УВОД

Проблемът за стреса при растенията е централен проблем в растителната физиология. След фундаменталните достижения във физиологията на растенията през миналия век днес научните изследвания са насочени предимно към разкриване на механизмите за аклиматизация и адаптация на растенията към различни неблагоприятни условия на околната среда (Munns, 2002; Iba, 2002; Ohashi et al., 2009). Актуалността на тази проблематика в значителна степен е мотивирана от настъпващите промени в климата, които като цяло влияят негативно на растенията, в това число и на селскостопанските култури.

Сред най-характерните за нашата страна стресови фактори са засушаването и високите температури. В резултат на действието на тези стресови фактори се понижава генетично заложеният продуктивен потенциал на селскостопанските култури

и се влошава качеството на продукцията. През 2007 г. в резултат на засушаване в редица райони на страната напълно беше компрометирана реколтата от царевица и други пролетни култури.

Механизмите, които обезпечават толерантността на растенията към стресови фактори, независимо от това дали са генетично закрепени (адаптационни) или се формират през жизнената дейност (аклиматизационни), може да се диференцират в 2 групи: (1) избягване на стреса и (2) съпротивление. Най-общо при избягване на стреса растенията разполагат така вегетационния си цикъл, че критичните фази от растежа и развитието им да не съвпадат с неблагоприятни въздействия или формират механизми и структури, които буферират стресовите въздействия. Съпротивлението на организмите е свършено друг тип реакция (стратегия) на растенията към стресови фактори. При нея растенията издържат действието на стресовия фактор чрез редица механизми, които могат

да бъдат общи, когато подпомагат растенията при въздействия на различни стресови фактори, и специфични, когато противодействат на един конкретен фактор.

Молекулярните механизми, обезпечаващи повишена толерантност на растенията към основните стресови фактори, са актуален проблем в съвременната физиологична наука (Bruce et al., 2002; Suzuki and Mittler, 2006; Wahid et al., 2007). Значителна част от тези изследвания са насочени към разкриване на механизмите на (1) рецепция на сигналния фактор, (2) неговото предаване и (3) индуцирането на промени в генната експресия. Установено е, че в регулирането на физиологичните отговори са въввлечени редица фитохормони, като абсцисинова киселина (ABA), етилен, жасмонова киселина и др., както и че в отговор на стреса се наблюдава засилена експресия на едни гени и понижена на други, синтезиране на нови белтъци, изменение на активността на вече синтезирани белтъци и др. Молекулярните механизми, контролиращи тези процеси, не са напълно изяснени, но е ясно, че те действат на различни нива - транскрипция на гените, трансляция и следтранслационна стабилизация.

Механизми на толерантност на растенията към засушаване и високи температури

Растенията изпитват траен воден дефицит при продължително почвено засушаване, но така също и при засоляване и ниски температури. Във вторите два случая е затруднен достъпът на вода за растенията. Умереният воден дефицит предизвиква значителни промени във водния режим и растенията го преодоляват чрез ограничаване на загубите на вода и/или чрез повишаване на поглъщането на вода чрез по-мощна коренова система. Силният воден дефицит предизвиква изсъхване, при което по-голяма част от протопластната вода се губи и в клетките се съдържат само незначителни количества свързана вода (Bartels and Salamini, 2001). Водният дефицит предизвиква нарушения още в структурата и функцията на биополимерите, понижава ензимната активност, води до деструкция на мембранните системи, загуба на тургор и инхибиране на растежа като интегрален физиологичен процес. Проявите на тези нарушения зависят от ефективността на защитните механизми. Сред тях най-добре са проучени осмотичното саморегулиране и експресията на белтъци със защитни и регулаторни свойства (Munns, 2002; Boudsocq and Lauriere, 2005).

Осмотичното саморегулиране е процес на акумулиране на нискомолекулярни вещества предимно в цитоплазмата на клетките и на неорганични йони във вакуолата в условия на развиващ се воден дефицит. По този начин се увеличава осмотичното налягане на

клетката като цяло и тя запазва способността си да поглъща вода от средата. Сред най-известните осмолити са пролин, глицин-бетаин, манитол и полиамините спермидин и спермин.

Установено е, че при воден дефицит се увеличава експресията на няколко групи белтъци: Lea-белтъци (late embryogenesis abundant), шаперони, протеази, убиквитини и аквапорини. Lea-белтъците се диференцират в няколко подгрупи, а ефектите им са свързани с повишена способност да свързват вода, да образуват комплекси с важни белтъци, да свързват йони и други ефекти, защитаващи клетките от обезводняване. Шапероните защитават белтъците при формиране на третичната и четвъртичната им структура, а протеазите и убиквитините подпомагат селективната деградация на увредени белтъци и по този начин подпомагат бързата им замяна с нови, неувредени молекули. Аквапорините са белтъци, образувачи водни канали в мембраните, през които водата преминава с висока скорост. Чрез експресия на повече водни канали (или активация на съществуващите) в толерантните към обезводняване клетки се осигурява бързо навлизане на вода.

Поддържането на нормална метаболитна активност при значителни отклонения в температурните условия се достига чрез функционирането на различни механизми. Сред най-ефективните механизми на защита на растенията от високи температури са: (1) модификацията на ензимните системи; (2) експресията на термошокови белтъци; (3) модификацията на мембранните липиди и др. (Iba, 2002; Wahid et al., 2007).

Приспособяването на метаболизма към високи температури е свързано с изменения в каталитичните свойства на ензимите и/или с увеличаване на тяхното количество в клетките. Каталитичните свойства зависят от енергията на активация на ензимните реакции; при понижаване на температурата тя намалява, а при повишаване нараства. Енергетичната промяна се постига чрез конформационни изменения, свързани с образуване или с разрушаване на слабите водородни, вандерваалсови или електростатични връзки. Увеличаването на броя на слабите връзки в ензимния комплекс повишава неговата термостабилност, но при това се увеличава и енергията на активация.

Друг механизъм за аклиматизация към високи температури е свързан с експресията на така наречените "термошокови белтъци". Те се синтезират в отговор на високи, но нелетални температури в продължение на няколко часа. Тези белтъци се диференцират в няколко групи и проявяват широк спектър от защитни реакции спрямо белтъчния метаболизъм.

Модификацията на мембранните липиди е третият механизъм на аклиматизация към високотем-



пературен стрес. Мембраните имат полутечен строеж, необходим за нормалното функциониране на локализираните в тях ензими, преносители, водни канали и др. Високите температури предизвикват фазови преходи в мембраните, свързани със структурно-функционална дезинтеграция. Аклиматизацията към високи температури е насочена към стабилизиране на липидния бислой чрез промени в липидния метаболизъм. Синтезират се мастни киселини с изменена дължина на веригата и променен брой на двойните (ненаситените) връзки. Мембраните, в които мастните киселини са с по-дълга въглеродородна верига и с по-малък брой двойни връзки, са по-термостабилни.

През последните години нараства интересът към така наречения окислителен стрес при растенията (Mittler, 2002; Suzuki and Mittler, 2006). Установено е, че различни по своята природа стресови фактори, в това число засушаване и високи температури, могат да индуцират състояние на окислителен стрес в растенията, поради което това състояние се възприема като компонент на почти всяко стресово въздействие.

Окислителният стрес в клетката се предизвиква от активни кислородни видове (АКВ) ($O_2^{\cdot-}$; H_2O_2 ; 1O_2), чиято продукция нараства неконтролируемо при стресови ситуации. Те имат значителен окислителен потенциал и достатъчен полуживот (half-time), поради което са способни да окислят важни за клетката макромолекули – липиди, белтъци и ДНК. Сред най-характерните негативни ефекти на АКВ е липидната пероксидация, която се получава при реакции на активни кислородни видове с полиненаситените мастни киселини в състава на липидите, разграждане на белтъците и инактивация на ензимите (Sairam et al., 2005).

За защита от окислителен стрес растителните клетки формират антиокислителна защитна система, включваща неензимни и ензимни компоненти. Неензимни компоненти са аскорбиновата киселина, глутатионът, токоферолът, каротеноидните пигменти и някои други нискомолекулни съединения. Установена е също така и специфичната роля на полиамините като неензимни антиоксиданти (Tadolini, 1988; Lovaas, 1997). Ензимните компоненти включват ензимни системи, свързани с обезвреждането (или разграждането) на активните кислородни видове, като супероксидна дисмутаза, каталаза, глутатион редуктаза, пероксидази и др. В условия на стрес високата активност на антиокислителните ензими се свързва с ниските нива на липидна пероксидация в толерантните генотипове. Повишената активност на тези ензими в условия на стрес може да бъде част от по-обща антиокислителна система, включваща и регулация на белтъчната синтеза и генната експресия (Scandalios et al., 1997).

Подход и индикатори за подбор на растителни генотипове с повишена толерантност към засушаване и високи температури

Поради голямата значимост на фактора „сорт“ за устойчивостта на земеделието днес се развиват селекционни програми за подбор и целенасочено създаване на толерантни към засушаване и високи температури генотипове при основните селскостопански култури (Blum, 1988; Reynolds et al., 1999; Trethowan and Pfeiffer, 1999; Hall, 2004).

Изучаването на морфологични и физиологични признаци, свързани с устойчивост към абиотичен стрес, е в основата на т.нар. холестичен подход, който все по-успешно се прилага при идентифициране на толерантни генотипове (Monneveux, 1989). Отборът по морфологични и физиологични признаци в ранните етапи на селекцията дава полезна информация, когато все още не може да се следи добивът (Austin, 1993). За тази цел са нужни бързи и надеждни косвени методи за ефективен скрининг на голям брой генотипове (Jaafari, 1999; Szilagyi, 2003), както и апаратура, която да позволи експресна оценка за физиологичния и биохимичния статус на индивидуални растения и малки по размер популации.

Оценката на толерантността на растителни генотипове към засушаване и високи температури може да се извършва в лабораторни и в полски условия. В лабораторни условия един възможен подход е преценката на генотиповете по депресията и възстановяването на млади растения след осмотичен стрес (Bozhanova and Dechev, 2002; Божанова и съавт., 2004). Като индикатор за толерантност към засушаване и високи температури се използва клетъчната мембранна стабилност, преценена по електролитното изтичане от растителните тъкани и нивата на липидната пероксидация (Reynolds et al., 1999; Munne-Bosch et al., 2001). Други възможни индикатори са параметри на хлорофилната флуоресценция, активността на антистресови ензими и др. (Blum, 1988; Hall, 2004; Zlatev and Lidon, 2005). Молекулярното картиране и геномният подход откриват нови възможности за определяне на основни гени и QTL локуси, от които зависи толерантността към стресови фактори (Nguyen, 1999).

Работата с голям брой генотипове в полски условия е ограничена от динамиката на климатичните фактори, която намалява коректността на сравнителните изследвания. В тези условия подходът е свързан с оценка на промените във физиологичния статус на различни генотипове в хода на стресовото въздействие и след неговото отминаване. Като индикатори се използват газометрични (скорост на фотосинтеза и транспирация) и флуоресцентни параметри, както и параметри на водния режим

(утринен воден потенциал - predawn water potential), относително водно съдържание и др. (Blum et al., 1998; Blum, 1999). Паралелно в съхранени в течен азот проби може да се определят активността на антиоксидателни ензими, количеството и редокссъстоянието на неензимни антиоксиданти (глутатион, аскорбинова киселина, каротеноиди), нивото на липидна пероксидация и др.

Във връзка с актуалността на проблема за стреса от засушаване и високи температури при растенията в Катедрата по физиология на растенията и биохимия в Аграрния университет в Пловдив е развито научно направление в този аспект. Вече са проведени изследвания за скриниране на толерантни към засушаване и високи температури генотипове памук, полски фасул и тютюн (Божинова и съавт., 1999; Божинов и съавт., 2000; Berova and Zlatev, 2002; Berova and Zlatev, 2003). Проучват се възможности за намаляване на стресовите ефекти чрез използване на растежни регулатори (Berova and Zlatev, 2002; Berova et al., 2002; Стоева и съавт., 2005). Катедрата разполага със съвременна научна апаратура, която позволява бързо и надеждно регистриране на стреса при растенията с неструктурни методи: портативна фотосинтетична система LCA-4 (ADC, England) и LCpro+ (ADC, England) – за анализ на листния газообмен, флуориметър MINI-PAM (Walz, Germany) – за анализ на хлорофилната флуоресценция, и камерата за налягане (ELE-5535, ELE International, England), с която се определя водният потенциал в листата на растенията. Катедрата участва в научен консорциум с Института по зеленчукови култури «Марица», Института по овощарство в Пловдив и Института по памука и твърдата пшеница – Чирпан, финансиран от Фонд «Научни изследвания», за създаване на съвместна научна инфраструктура и оборудване за изследвания в областта на стреса при основните селскостопански култури (Василев и колектив, проект ДО 02-88/2008).

ЛИТЕРАТУРА

Божинова, В., 1997. Изследване на сухоустойчивостта на твърдата пшеница чрез депресията на растежа при осмотичен стрес. – В: Сборник: Втора научна конференция “Проблеми на влакнодайните и зърнено-хлебните култури”, Чирпан, 1997, 34-39.

Божинова, В., Д. Дечев, Ш. Янев, 2005. Толерантност към осмотичен стрес на генотипове твърда пшеница. – *Field Crops Studies*, v.II, 37-44.

Божинова, В., Д. Дечев, Ш. Янев, 2006. Изследвания върху сухоустойчивостта при твърдата пшеница. – *Почвознание, агрохимия и екология*, 30, 4 кн., 40-46.

Божинова, В., Дечев, Д., Денева, М., Лалев, Ц., Иванов, П., 2004. Проучване на видове от сем. Gramineae с цел включване в селекционните програми по твърда пшеница. – *Растениевъдни науки*, 6, 439-495.

Божинова, В., Дечев, Д., Янев, Ш. и Петрова, Т., 2002. Параметри на флаговия лист и връзката им със студо-, сухоустойчивостта и добива при твърда пшеница. – В: Сборник “Научна конференция с международно участие – Стара Загора – 2002”, 50-54.

Божинов, Б., А. Василев, Л. Димитрова, 2000. Сравнително изследване на фотосинтетичната активност на два сорта памук – Чирпан 603 (*G. hirsutum* L.) и С-6037 (*G. barbadense* L.), в условия на засушаване и високи температури. – *Растениевъдни науки*, 37, 452-458.

Божинова, Р., Б. Божинов, А. Василев, 1999. Промени във водообмена и фотосинтезата на различни генотипове тютюн, подложени на ПЕГ индуциран воден стрес. I. Флуоресцентен анализ на фотосинтезата. – *Растениевъдни науки*, 36, 468-471.

Герчева, П., 2005. Вкореняване и регенерация ин витро на хибрида *Prunus fruticosa* x *Prunus cerasus*. – *Растениевъдни науки*, 42, 423-426.

Петкова, В., Н. Велков, А. Василев, 2007. Физиологична реакция на краставицата (*Cucumis sativus* L.) към причинителя на брашнестата мана (*Sphaerotheca fuliginea* (Shlecht.:FR.) OLL.). – *Растениевъдни науки*, (№ 5), 44: 430-435.

Петкова, В., И. Порязов, Л. Кръстева, 2003. Реакция на градинския фасул (*Phaseolus vulgaris* L.) към високи температури през репродуктивния период на растенията. – В: Аграрен университет - Пловдив, Научни трудове, т. XLVIII, 133-138.

Стоева, Н., М. Борова, А. Василев, З. Златев, Ц. Бинева, 2005. Ефект на някои растежни регулатори като антидоти на гама-радиационен стрес при житни култури. – В: Аграрен университет – Пловдив, Научни трудове, т. L, кн. 6, 221-226.

Austin, R.B., 1993, Augmenting yield-based selection. – In: Hayward, M. et al. (editors). *Plant Breeding: Principles and Prospects*, Chapman and Hall, London, pp. 391-405.

Bartels, D., F. Salamini, 2001. Desiccation Tolerance in the Resurrection Plant *Craterostigma plantagineum*. A Contribution to the Study of Drought Tolerance at the Molecular Level. – *Plant Physiol.*, 127:1346-1353.

Berova, M., Z. Zlatev, N. Stoeva, 2002. Effect of paclobutrazol on wheat seedlings under low temperature stress. – *Bulg. J. Plant Physiol.*, 28 (1-2): 75-84.



- Berova, M., Z. Zlatev, 2002. Influence of soil drought on growth and biomass partitioning in young bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. – Annual Report of the Bean Improvement Cooperative, vol. 45: 190-191.
- Blum, A, Mayer, J., Golan G. and Sinmena, B., 1998. Drought resistance of a doubled-haploid line population of rice in the field, Workshop on Genetic Improvement of Rice for Water-Limited Environments, IRRI, LosBanos, Philipines, December, 1998.
- Blum, A., 1988. Plant breeding for stress environments. CRC Press. Inc., Boca Raton, Florida.
- Blum, A., 1999. Towards Standard Assays of Drought Resistance in Crop Plants. – In: Molecular Approaches for the Genetic Improvement of Cereals for Stable Production in Water-Limited Environments, Ribaut J. and Poland, D. (editors), CIMMYT, 29-35.
- Boudsocq, M., Ch. Lauriere, 2005. Osmotic signaling in plants. Multiple pathways mediated by emerging kinase families. – Plant Physiol., 138, 1185-1194.
- Bozhanova and Dechev, 2002. Assessment of tissue culture derived durum wheat lines for somaclonal variation. – Cereal Res. Comm., 30, № 3-4, 277-285.
- Bruce, W. B., G. O. Edmeades, T.C. Barker, 2002. Molecular physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. – J. Exp. Bot., 53 (365), 13-25.
- Berova and Zlatev, 2002. Physiological Response of Paclobutrazol-Treated Triticale Plants to Water Stress. – Biologia Plantarum, 46 (1): 133-136.
- Hall, A., 2004. Breeding for adaptation for drought and heat in cowpea. – Europ. J. Agron., 21, 447-459.
- Iba, K., 2002. Acclimation response to temperature stress in higher plants: approaches og gene engineering for temperature tolerance. – Annu. Rev. Plant Biol., 53, 225-245.
- Jaafari, S., 1999. Morphophysiological tools for cereals breeding for abiotic stress resistance. – In: The Fourth International Crop Science Conference for Africa "Sustainable Crop Production: Management, Protection, and Rehabilitation", 11-14 October, 1999, Casablanca, Morocco.
- Lovaas, E., 1997. Antioxidative and metal-chelating effects of polyamines. – Adv. Pharmacol., 38, 119-149.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. – Trends in Plant Science, 7 (9), 405-410.
- Monneveux, P., 1989. Quels strategies pour l'ameration genrtique de la tolerance au deficit hydrique des cereales d'hiver? liemes journees scientifiques du Reseau Biotechnologres Vegetales AUPELF-UREF: L'ameration des Plantes pour l'Adaptation aux milieeux arides, Tunis, 4-9 dec, 1989, 209-234.
- Munns, R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. – Plant, Cell and Environ., 25, 239-250.
- Nacheva, L. and Ivanova, K., 1998. Effects of the gas exchange rate in the culture vessels on the photosynthesis and the carbon metabolism of micropropagated fruit plantlets (apple rootstock MM 106). – Biotechnol. & Biotechnol. Eq. 12 (1): 39-44.
- Nguyen, H., 1999. Molecular Dissection of drought resistance in crop plants: from traits to genes. – In: Molecular Approaches for the Genetic Improvement of Cereals for Stable Production in Water-Limited Environments, Ribaut J. and Poland, D. (editors), CIMMYT, 36-40.
- Ohashi, Y., N. Nakayama, H. Saneoka, P. K. Mohapata, K. Fujita, 2009. Differences in the responses of stem diameter and pod thickness to drought stress during the grain filling stage in soybean plants. – Acta Physiol. Plant, 31:271-277.
- Petkova, V., I. Denev, D. Cholakov, I. Porjazov, 2007. Field screening for heat tolerant common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) by measuring of chlorophyll fluorescence induction parameters. – Scientia Horticulturae, vol. 111, 2:101-106.
- Petkova, V., V. Nikolova, I. Poryazov, 2003. Possibilities for selection of garden beans (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes, tolerant to high temperature. I. Changes in chlorophyll fluorescence parameters. – Annual report of Bean Improvement Cooperative, vol. 46, p. 81-82.
- Reynolds, M., Skovmand, B., Trethowan, R. and Pfeiffer, W., 1999, Evaluating a conceptual model for drought tolerance. – In: Molecular Approaches for the Genetic Improvement of Cereals for Stable Production in Water-Limited Environments, Ribaut J. and Poland, D. (editors), CIMMYT, 49-53.
- Sairam, R., Srivastava G., Agarwal S., Meena R.C., 2005. Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. – Biol. Plant., 49, 85-91.
- Scandalios, J.G., Guan L., Polidoros A.N., 1997. Catalases in plants: gene structure, properties, regulation and expression. – In: Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses. Scandalios J.G. (ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, pp. 343-398.
- Suzuki, N., R. Mittler, 2006. Reactive oxygen species and temperature stress. A delicate balance between signaling and destruction. – Physiol. Plant., 126, 45-51.
- Szilagyi, L., 2003. Influence of drought on seed yield components in common bean. – Bulg. J. Physiol., Special Issue, 320-330.

Tadolini, B., 1988. Polyamine inhibition of lipid peroxidation.
– Biochem. J., 249, 33-36.

Trethowan, R. and Pfeiffer, W., 1999. Challenges and future strategies in breeding wheat for adaptation to drought stressed environments: a CIMMYT wheat program perspective, CIMMYT, 45-48.

Wahid, A., S. Goelani, A. Ashraf, M. R. Foolad, 2007. Heat tolerance in plants: an overview. – Env. Exp. Bot., 61, 199-223.

Zlatev, Z., F. Lidon, 2005. Effects of water deficit on plant growth, water relations and photosynthesis. – Biologia Vegetal e Agro-Industrial, 2, 235-252.

Авторите изказват благодарност на Фонд “Научни изследвания” за предоставеното финансиране на проект ДО 02-88/2008.

Статията е приета на 12.07.2010 г.

Рецензент – доц. д-р Василий Голцев

E-mail: goltsev@biofac.uni-sofia.bg