

Účinek teplotného stresu na fotosyntetický aparát pšenice (The effect of thermal stress on photosynthetic apparatus of wheat)

Barányiová, I. ¹⁾, Brestič, M. ²⁾ Sarvašová, E. ²⁾

¹⁾ Ústav agrosystémů a bioklimatologie, Agronomická fakulta,
Mendelova univerzita Brno,

²⁾ Katedra fyziologie rostlín, Fakulta agrobiologie a potravinových zdrojov, Slovenská
Poľnohospodárska univerzita Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic

Souhrn: Cieľom práce bolo porovnanie fyziologických reakcií odrôd pšenice letnej formy jarnej (*Triticum aestivum* L.) na vysokú teplotu. Využívali sme meranie rýchlej kinetiky fluorescencie chlorofylu a prístrojom HandyPEA (Hansatech, Veľká Británia), pri ktorom sme hodnotili maximálny kvantový výťažok fotochémiie (Fv/Fm) a nedeštruktívne meranie chlorofylmetrom SPAD (Minolta, Japonsko). Dosažené výsledky ukazujú rozdielnu dynamiku reakcií študovaných genotypov, ako aj hmotnosti využitia nedeštruktívnych meraní indikácie stresu. Fotosystém II je citlivý na vysokú teplotu a merané fluorescenčné parametre sú dostatočne citlivé na to, aby bola identifikovaná miera stresu a poškodenia fotosyntetického aparátu. Naše odrody v porovnaní s modelovými bulharskými odrodami sa mi javia ako univerzálnejšie pre rôzne podmienky prostredia. A keďže podmienky rôznych rokov sa striedajú, považujem ich za výhodnejšie. Výsledky môžu byť zdrojom ďalšieho výskumu tolerance genetických zdrojov na environmentálne stresy.

Klíčovú slova: pšenica, vysoká teplota, fotosyntetický aparát, stres

Abstract: The aim of the work was comparison of physiological reactions of varieties of summer wheat form spring (*Triticum aestivum* L.) on high temperature. We used measuring of fast kinetics of chlorophyll fluorescence and the apparatus HandyPEA (Hansatech, Great Britain), with which we rated the maximal quantum extract of photochemistry (Fv/Fm) and non-destructive measuring by chlorophyllmeter SPAD (Minolta, Japan). The received results show a different dynamics of reactions of genotypes that we studied as well as possibilities of using non-destructive measurements of stress indication. Photosystem II is sensitive on high temperature and the measured fluorescent parameters are enough sensitive to identify the degree of stress and destruction of photosynthetic apparatus. Our varieties compared with model Bulgarian varieties to me appear to be more universal for different environmental conditions. And whereas conditions of various alternating years, I consider them as preferred. The results might be the source of the further research of genetic sources on environmental stresses tolerance.

Key Words: wheat, high temperature, photosynthetic apparatus, stress

Úvod

Význam zisťovania teplotného účinku na rastliny a fyziologické procesy narastá s prebiehajúcimi globálnymi zmenami klímy. Stresu sú rastliny vystavené vtedy, ak sa tieto podmienky prostredia výrazne odchyľujú od optima, ak je prekročená kapacita homeostatických mechanizmov rastlín kompenzovať účinok nepriaznivých faktorov. Rastliny sú schopné tolerovať vysoké teploty len do istej miery, pri prekročení určitého bodu sú nenávratne poškodené. Preto je nesmierne dôležité, aby sme čo najviac vedeli o všetkých reakciách v rastlinách a vedeli adaptovať pestovateľské technológie, vyšľachtiť tolerantnejšie genotypy na vysokú teplotu a efektívnejšie hospodáriť s vodou, a takto sa pripraviť na scenáre zmien klímy, ktoré predikujú nárast teplôt v prízemnej vrstve atmosféry.

V raste rastlín predstavuje expanzia listovej plochy významný vývojový krok, ktorý má veľký vplyv na celkové úrody poľnohospodárskych plodín, ale aj na samotnú fotosyntézu rastlín (Volkenburg, 1999). Anatomické zmeny pri vysokých teplotách sú podobné, ako zmeny spôsobené suchom. Tendencia je zmenšovať veľkosť buniek na úrovni celej rastliny, s cieľom obmedziť stratu vody (Añon et al., 2004). U rastlín teplotný stres zvyšuje priepustnosť plazmatickej membrány a poškodzuje mezofyl buniek (Zhang et al., 2005). Plazmatická membrána umožňuje reguláciu výmeny látok medzi prostredím a bunkou. Hlavné zmeny sa vyskytujú na sub-bunkovej úrovni v chloroplastoch, čím dochádza k výrazným zmenám fotosyntézy. Zmenou štruktúrnej organizácie tylakoidov vysoká

teplota znižuje fotosyntézu (Karim et al., 1997). Morfológické a fyziologické zmeny prebiehajú počas vývoja listov a zahŕňajú syntézu chlorofylu, samotného fotosyntetického aparátu, fotosystému II a I, fotosyntetických enzýmov (Rubisco), (Maayan et al., 2008; Gratani, Bonito, 2009). Fotosyntéza je ovplyvnená obsahom chlorofylu a vodivosťou prieduchov a s vývojom listu narastá rýchlosť fotosyntézy a pri plne vyvinutých listoch dosahuje maximum (Gonzalez-Rodriguez, Peters, 2010), s procesom senescencie sa následne znižuje. Citlivé na fotopoškodenie sú viac mladé listy, nakoľko zachytená excitačná energia svetlo zbernými komplexmi je pri asimilácii uhlíka menej využitá (Greer, Haligan, 2001). Fotosyntézu zasahuje vysoká teplota najmä zmenou distribúcie excitačnej energie prostredníctvom zmeny štruktúry tylakoidov (Berry, Bjorkman, 1980), zmenou syntézy produktov, zmenou fotorespirácie a zmenou aktivity Calvinovho cyklu. So zvyšujúcou teplotou sa znižuje rýchlosť nárastu oxidu uhličitého (CO₂) (Monson et al., 1982). Dlhodobý teplotný stres pôsobí na vyvíjajúce sa semená tým, že dochádza k zníženiu ich klíčivosti a životaschopnosti (Weaich et al., 1996). Reakcia na teplotný stres je, že stróma a lamely sa nafukujú a chloroplasty v mezofyle získavajú guľatý tvar. U pšenice letnej bola pozorovaná termotolerancia s vyššou aktivitou katalázy superoxidu, vyšší obsah kyseliny askorbovej a menšie oxidačné poškodenie (Sairam, Saxena, 2000).

Cieľom nášho príspevku bolo zameranie na: aplikáciu meraní rýchlej kinetiky fluorescencie chlorofylu a tzv. OJIP testu pred a po účinku vysokých teplôt. Zámerom bolo porovnať ich účinok na:

parametre maximálnej fotochemickej efektívnosti PSII vyjadrenej prostredníctvom parametra Fv/Fm

- citlivosť kyslíkového komplexu vyvíjajúceho na úrovni fotosystému II, PSII, meraného prostredníctvom parametra Wk (relatívna variabilná fluorescencia)
- index výkonnosti fotosyntetického aparátu, meraného ako tzv. Performance index (PI)
- iniciálnu, tzv. nulovú fluorescenciu chlorofylu a, parameter Fo, keďže sa ukazuje ako citlivý práve na vysokú teplotu.

Popri uvedených meraniach boli merané aj bežné bioindikačné parametre, ako relatívny obsah vody (RWC) a index spadového čísla, ktoré ukazujú na relatívne zmeny v obsahu chlorofylu.

Materiál a metódy

Pokusy boli realizované ako štandardné pokusy. Pšenica bola zasiata 21. 2. 2013. Vysiatych bolo 5 odrôd pšenice jarnej: Katya, Prelom, Saxana, Aranka, Korzo – morené osivo (Raxil TNT). Každá odroda bola zasiata do deviatich nádob, spolu 45 vzoriek. Odrody po zasiatí boli po dobu dva týždne (10. 3. 2013) v klimatickom boxe. Rastliny netrpeli teplotným ani vodným stresom vplývalo na nich len osvetlenie. Po objavení piateho listu sme začali robiť analýzy. Po vybratí rastlín z boxu sme začali realizovať merania. Merania sme robili na rastlinách kontrolných a dehydrovaných (stresovaných).

Nedeštrukčné merania pomocou chlorofylmetra SPAD-502 (Minolta, Japonsko) boli použité pre stanovenie obsahu chlorofylu (obr. 4). Toto meranie chlorofylmetrom SPAD-502 korešponduje v listoch rastlín s obsahom chlorofylu. Fluorescencia emitovaná listami po excitácii červeným svetlom bola meraná prenosným fluorofylmetrom HandyPEA (obr. 5 A, B) (Plant Efficiency Analyser) vyrobeným Hansatech Instruments (UK) a zozbierané údaje boli analyzované JIP testom podľa Strassera et al., (2000), ktorý poskytuje parametre indikujúce vlastnosti PS II. Využili sme pri tom software HandyPEA 1. 3. Sledovali sme priebeh OJIP- kriviek a parametre odvodené z JIP-testu.

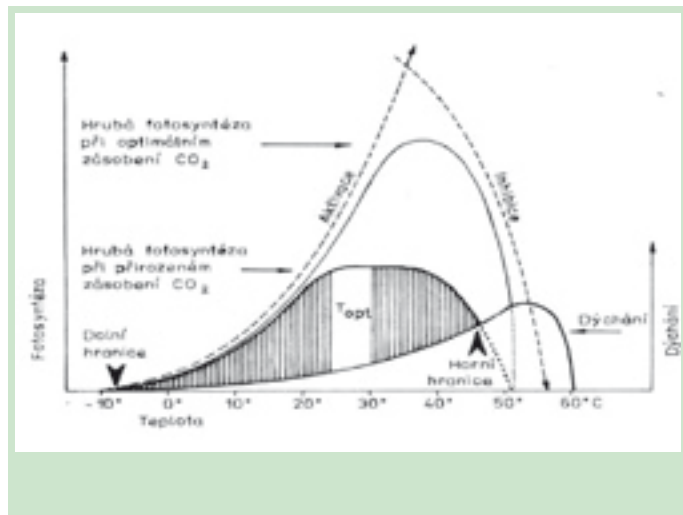
Boli hodnotené nasledovné parametre:

- Fo – počiatočná fluorescencia na začiatku svetelného pulzu.
- Fv/Fm – Maximálny kvantový výťažok fotochémiie. Optimálne hodnoty sú okolo 0,834.

Relatívny obsah vody sme stanovovali na kontrolných a stresovaných rastlinách 5 odrôd pšenice letnej formy jarnej (Prelom, Katya, Korzo, Saxana, Aranka). Princíp stanovenia bol nasledovný: z každej kontrolnej a stresovanej rastliny sme odstrihli list o veľkosti 2 cm. Odvážili sme čerstvú hmotnosť a list ponorili do vody a vložili do chladničky na dobu 4 hod. Po 4 hodinách sme listy vybrali z vody, vysušili a odvážili sme saturovanú hmotnosť. Po odvážení sme vysušené listy vložili do sušiarne pri teplote 75 °C po dobu 4 hod. Po uplynutí doby sme listy opäť odvážili a zistili hodnotu suchej hmoty. Z týchto troch hodnôt sme vypočítali relatívny obsah vody pri rastlinách kontrolných aj stresovaných podľa vzťahu:

$$RWC (\%) = \frac{\text{čerstvá hmotnosť} - \text{hmotnosť sušiny}}{\text{hmotnosť po nasýtení vodou} - \text{hmotnosť sušiny}} \cdot 100$$

Nazbierané údaje zo všetkých analýz boli sústredené do komplexných databáz v rámci programu Microsoft Excel. Realizovaná bola analýza variancie (ANOVA), pričom prezentované vzťahy boli vyhodnotené ako preukazné ($P < 0,05$),



ale aj nepreukazné ($P > 0,05$). Následne boli pri sledovaných parametroch získané vážené priemery a štandardné chyby ($\alpha = 0,05$) pre všetky experimentálne varianty. Vytváranie grafických výstupov bolo realizované taktiež v programe Microsoft Excel.

Biologickým materiálom bolo 5 genotypov pšenice letnej formy jarnej (*Triticum aestivum L.*) z rôznych provincií:



Obr. 2 Použitý prístroj pre nepriame meranie obsahu chlorofylu – SPAD-502 (Minolta, Japonsko) (URL 4)



Obr. 3 Prístroj HandyPEA (Hansatech, Veľká Británia) pre stanovenie rýchlej kinetiky fluorescencie chlorofylu a (URL 5)

Aranka: Česká poloranná odroda pšenice jarnej stredného vzrastu s vysokým výnosom zrna. Má stabilnú pekársku akosť skupiny A s vyšším obsahom bielkovín. Ako predplodiny jej vyhovujú okopaniny a v dobrých podmienkach znáša aj výsev po obilninách. Potrebuje včasný výsev najpozdšie do 15. 4. Má kratšie steblo s dobrou odolnosťou voči poliehaniu, dobre odnožuje a zahusťuje porast. Vzhľadom k dobrej adaptabilite vykazuje stabilné výnosy vo všetkých výrobných oblastiach (URL 1).

Saxana: Česká odroda vyšľachtená v ŠS Stupice krížením 'Rena' x ST – 802 – 74. V ŠOS zaradená pod označením ST – 232. Klas má stredne hustý, bielej farby, po celej dĺžke ostitý.

Zrno má vajcovitého tvaru, svetlohnedej farby. HTZ je stredná v priemere 41 g. Vo vlhkejších a chladnejších oblastiach na hlbokých hlinitých pôdach dosahuje najlepšie výsledky.

Katya: Bulharská odroda tolerantná voči suchu (URL 2).

Prelom: Bulharská odroda citlivá na sucho (URL 2).

Korzo: Poloneskorá potravinárska bezostinatá odroda so stredne dlhým stebлом. Odnožovanie je stredne dobré. Odolnosť proti poliehaniu je vynikajúca, ošetrovanie morforegulátormi nie je nutné. Zrno má veľké a výnos zrna je veľmi dobrý. Korzo dobre znáša skorú sejbu. Vysoký úrodový potenciál dosahuje najmä po zlepšujúcej predplodine. Vhodná je do kukuričnej, repnej a obilnárskych výrobných oblastí (http 3).

Odrody Saxana a Korzo boli získané z CVRV Piešťany, odrody Katya a Prelom poskytli pracovníci Bulharskej Akadémie vied v Sofii v Bulharsku.

Výsledky a diskusia

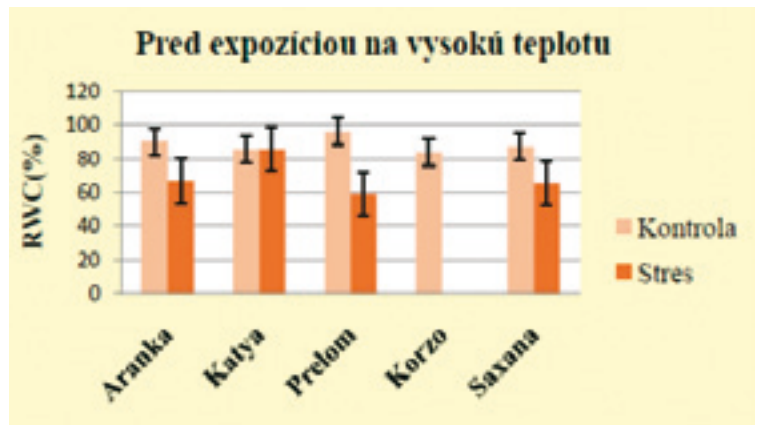
Ako modelové rastliny boli v experimentoch použité genotypy pšenice letnej formy jarnej (Prelom, Katya, Saxana, Aranka, Korzo), ktoré majú odlišnú toleranciu na vysokú teplotu.. Cieľom práce bolo charakterizovať a pozorovať účinky vysokej teploty na fyziologické reakcie a fyziologické vlastností rastlín.

Na fyziologické reakcie sme sledovali následovné parametre: maximálny kvantový výťažok fotochémiie a porovnávanie fluorescenčných kriviek. Na fyziologické vlastnosti sme sledovali parametre: relatívny obsah vody, obsah chlorofylu v liste.

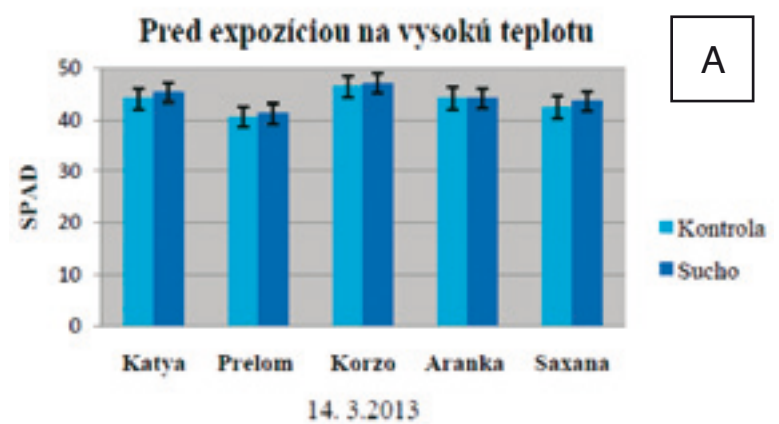
Tieto parametre sme sledovali pri kontrole a suchu pred expozíciou na vysokú teplotu a po expozícií na vysokú teplotu jednotlivých odrôd. Použité techniky mali výhodu v tom, že postačovalo použiť malé množstvo biologického materiálu a výsledky boli exaktné a porovnateľné s hodnotami v literatúre. Merania boli nakoniec aj štatisticky vyhodnotené.

Z obrázku 4 vyplýva, že kontrolné varianty pri jednotlivých odrodách mali dostatočný obsah vody. Najväčší obsah vody z kontrolných variantov dosiahla odroda Prelom (96 %), najmenší obsah vody dosiahla odroda Korzo (84 %) a Katya (86 %). Ako sa dalo očakávať, pri stresových variantoch sa relatívny obsah vody výrazne znížil. Najmenej bola nasýtená odroda Prelom (60 %) a Saxana (65 %). Najviac nasýtená bola Katya (85 %).

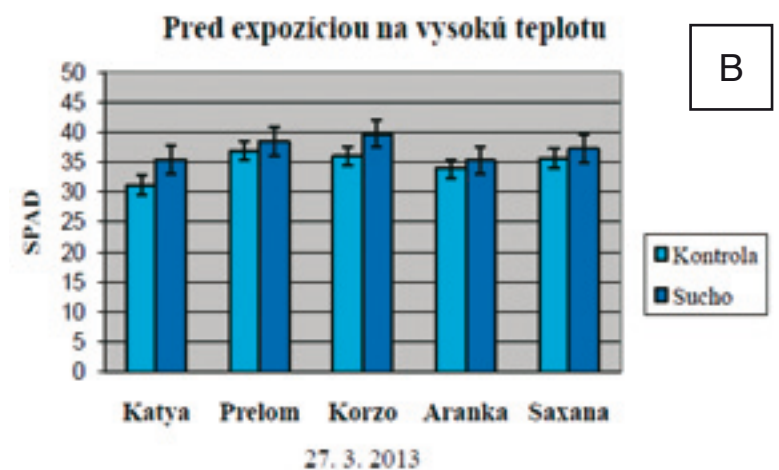
Obsah chlorofylu v liste sme merali pred expozíciou na vysokú teplotu dňa 14. 3. 2013 pri variantoch kontrole a suchu (Obr. 5 A), ktoré netrpeli deficitom vody. Rozdiel medzi variantmi nám vyšiel



Obr. 4 Znárodňuje relatívny obsah (RWC) vody pred expozíciou na vysokú teplotu pri kontrolných a stresových variantoch, z hľadiska fyziologických vlastností rastlín



Obr. 5 A, B Grafické znázornenie obsahu chlorofylu (SPAD) v listoch pred expozíciou na vysokú teplotu pri variantoch kontrola a suchu



preukazný. Najmenší obsah chlorofylu dosiahla odroda Prelom aj pri kontrole a suchu. Ostatné odrody mali obsah chlorofylu na rovnakej úrovni. Po dvoch týždňoch sme uskutočnili dňa 27. 3. 2013 druhé meranie, pričom už obsah chlorofylu sa výrazne znížil (Obr. 5). Najväčšie zníženie dosiahla odroda Katya a Aranka pri kontrole. Pri suchu najnižší obsah chlorofylu v liste mali tiež Katya a Aranka. Rozdiel medzi variantmi nám vyšiel preukazný.



Obr. 6 A, B. Grafické znázornenie maximálnych kvantových výťažkov PSII (F_v/F_m) pred expozíciou a po expozícii na vysokú teplotu pri variantoch kontrola a sucho

Variety kontrola a sucho merané pred expozíciou na vysokú teplotu dosiahli optimálne hodnoty maximálneho kvantového výťažku fotochémiie (Obr. 6 A), z čoho vyplýva, že nedošlo k poškodeniu fotosyntetického aparátu. Rozdiel medzi variantmi nám vyšiel preukazný. Pri variantoch meraných po expozícii na vysokú teplotu nám kvantový výťažok fotochémiie výrazne klesol (Obr. 6 B), čím došlo k veľkému poškodeniu fotosyntetického aparátu. Najvýraznejší pokles pri variantoch kontrola dosiahli odrody Korzo a Katya. Pri variantoch sucho dosiahla najvýraznejší pokles odroda Katya. Rozdiel medzi variantmi nám vyšiel preukazný.

Z priebehu kriviek pri jednotlivých odrodách (obr. 7 – Aranka, obr. 8 – Saxana, obr. 9 – Prelom, obr. 10 – Korzo, obr. 11 – Katya) pri variantoch kontrola a sucho meraných pred expozíciou na vysokú teplotu sme zaznamenali, že nedošlo k výraznému poškodeniu fotosyntetického aparátu, k opájaniu svetlozberného komplexu a k silnej inhibícii elektrónového poklesu.

Pri odrode Aranka variante kontrola meranej pred expozíciou na vysokú teplotu došlo k miernej inhibícii elektrónového poklesu (Obr. 7). Pri ostatných odrodách medzi variantmi kontrola a sucho sme rozdiel nezaznamenali medzi fyziologickými procesmi. Naopak pri variantoch kontrola a sucho týchto istých odrôd meraných po expozícii na vysokú teplotu došlo k výraznému poškodeniu fotosyntetického aparátu, k odpájaniu svetlozberného komplexu a k silnej inhibícii elektrónového poklesu.

Pri odrodách Aranka, Saxana, Prelom u variantoch kontrola a sucho meraných po expozícii na vysokú teplotu nebol medzi fyziologickými procesmi zaznamenaný vysoko preukazný rozdiel. Pri odrode Prelom variante kontrola meranej po expozícii došlo k výraznej inhibícii elektrónového poklesu (Obr. 9) oproti suchu. Pri odrode Katya variante kontrola meranej po expozícii došlo taktiež k výraznej inhibícii elektrónového poklesu (Obr. 11).

Záver

Na základe výsledkov našich meraní môžeme poukázať, že vysoká teplota ovplyvňuje stav vody v listoch, čo indukuje parameter RWC. Výrazné rozdiely sme zaznamenali predovšetkým medzi kontrastnými bulharskými genotypmi Katya a Prelom, pričom úroveň RWC dosahuje až 60 %, čo je úroveň veľmi silného vodného stresu, ktorý sa môže spolupodieľať aj na priamych inhibičných procesoch PSII vplyvom vysokej teploty. Ako využiteľné kritérium pre posudzovanie obsahu v asimilačných pigmentov bolo vykonané meranie čísla SPAD. Je praktické, jednoduché, nepoškodzuje listy. Je dostatočne citlivé z hľadiska porovnávania genotypov, ako aj z hľadiska účinku extrémnych faktorov.

Meranie parametrov fluorescencie chlorofylu a ukazuje na vysoký potenciál využitia. Merania fotochemických procesov prostredníctvom OJIP kriviek môžu byť využiteľné pre štúdium širšej škály genetických zdrojov v šľachtiteľskom procese. Na druhej strane odporúčame využitie poznatkov aj pri optimalizácii pestovateľského prostredia.

Naše odrody v porovnaní s modelovými bulharskými odrodami sa nám javia ako univerzálnejšie pre rôzne podmienky prostredia. A keďže podmienky rôznych rokov sa striedajú, považujeme ich za výhodnejšie.

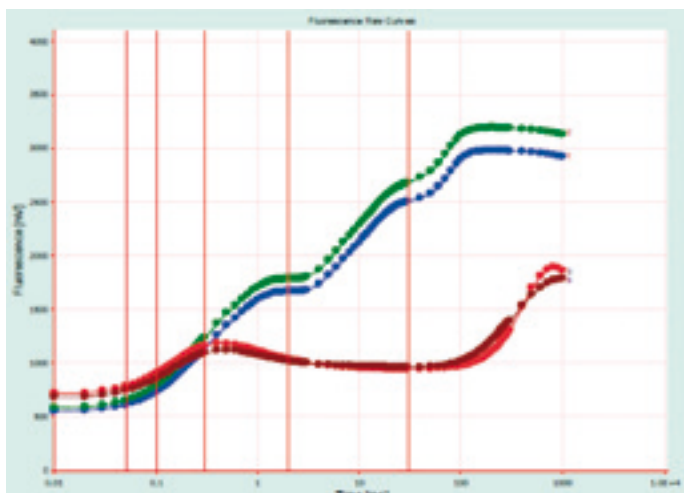
Literatúra

- Añon, S., Fernandez, J.A., Franco, J.A., Torecillas A., Alarcón, J.J., Sánchez-Blanco, M.J. 2004: Effects of water stress and night temperature preconditioning on water relations and morphological and anatomical changes of *Lotus creticus* plants. *Scientia Horticulturae*, 101, s. 333–342
- Berry, J., Bjorkman, O. 1980: Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. In: *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 31, s. 491–543
- Karim, M.A., Fracheboud, Y., Stamo, P. 1997: Heat tolerance of maize with reference of some physiological characteristics. *Ann. Bangladesh Agri.* 7, s. 27–33
- Larcher, Walter. 1988: *Fyziologická ekologie rostlin*. Praha : Academia, 1988. s. 361.
- Monson, R. K., Stidham, M. A., Williams, G. J., Edwards, G. E. 1982: Temperature dependence of photosynthesis in *Agropyron smithii* Rydb. I. Factors affecting net CO_2 uptake in intact leaves and contribution from ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase measured in vivo and in vitro. In: *Plant Physiology*, 69, s. 921–928
- Sairam, R.K., Saxena, D.C. 2000: Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science* 184, s. 55–61
- Weaich, K., Briston, K. L., Cass, A. 1996: Modeling preemergent maize shoot growth. II. High temperature stress conditions. *Agric. J.* 88, s. 398–403
- Zhang, J.-H., Huang, W.-D., Liu, Y.-P., Pan, Q.-H. 2005: Effects of temperature acclimation pretreatment on the ultrastructure of mesophyll cells in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. Jingxiu) under cross-temperature stresses. *J. Integrative Plant Biology* 47, s. 959–970. /recenzováno/

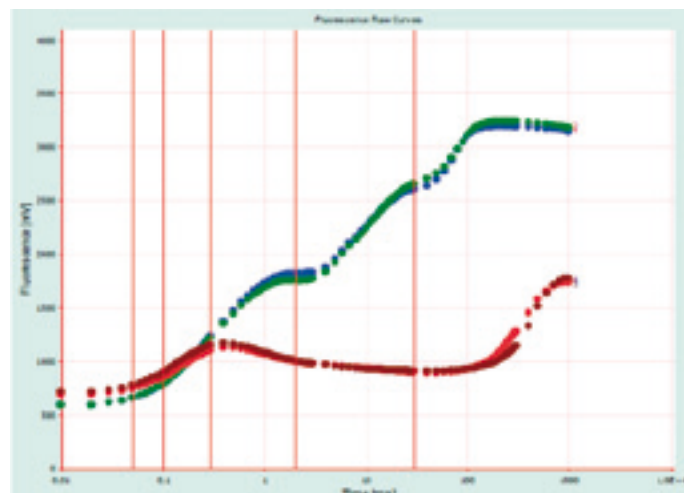
Internetové odkazy: dostupné u autorky

Kontaktná osoba

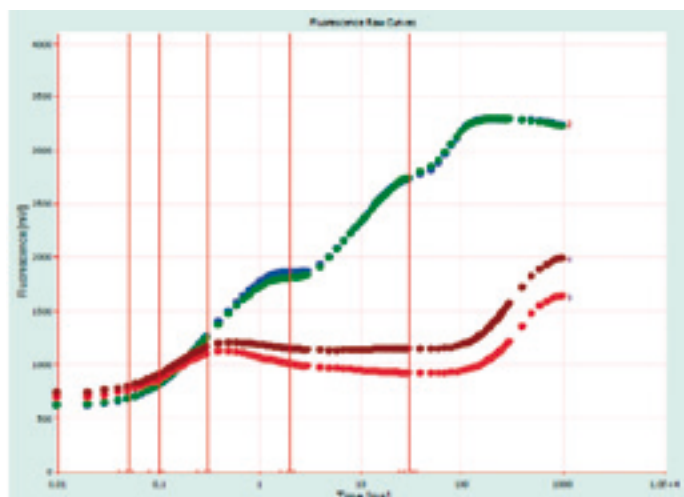
Ing. Irena Barányiová, irenka2308@azet.sk, +420773871812



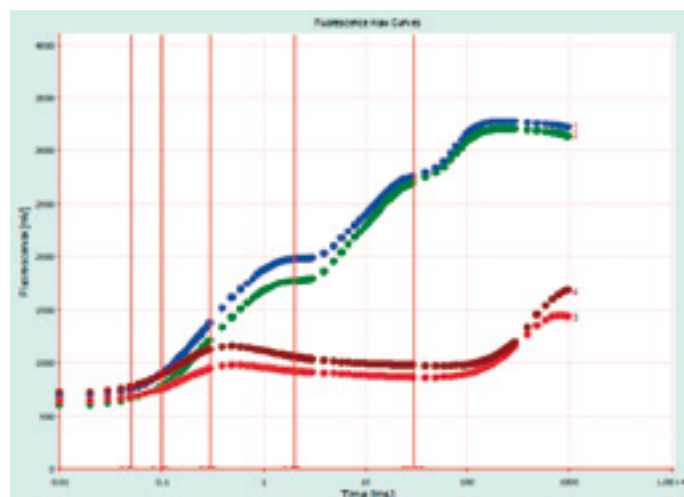
Obr. 7 Priebeh OJIP kriviek pri odrode Aranka. Modré body kontrola, zelené body sucho merané pred expozíciou na vysokú teplotu. Červené body kontrola a hnedé body sucho merané po expozícii na vysokú teplotu (42 °C)



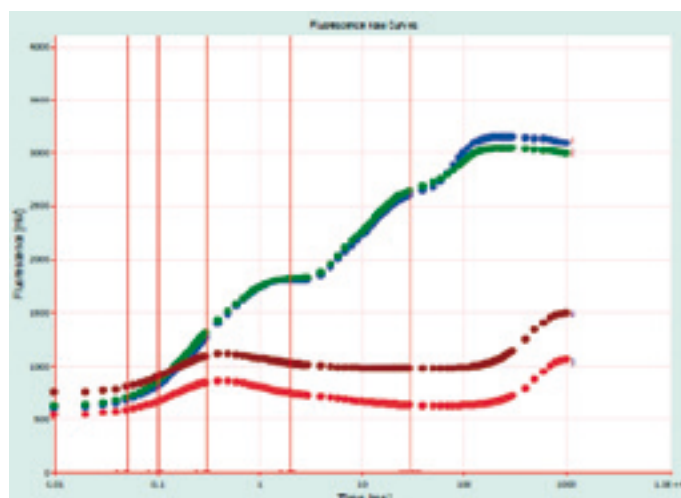
Obr. 8 Priebeh OJIP kriviek pri odrode Saxana. Modré body kontrola, zelené body sucho merané pred expozíciou na vysokú teplotu. Červené body kontrola a hnedé body sucho merané po expozícii na vysokú teplotu (42 °C)



Obr. 9 Priebeh OJIP kriviek pri odrode Prelom. Modré body kontrola, zelené body sucho merané pred expozíciou na vysokú teplotu. Červené body kontrola a hnedé body sucho merané po expozícii na vysokú teplotu (42 °C)



Obr. 10 Priebeh OJIP kriviek pri odrode Korzo. Modré body kontrola, zelené body sucho merané pred expozíciou na vysokú teplotu. Červené body kontrola a hnedé body sucho merané po expozícii na vysokú teplotu (42 °C)



Obr. 11 Priebeh OJIP kriviek pri odrode Katya. Modré body kontrola, zelené body sucho merané pred expozíciou na vysokú teplotu. Červené body kontrola a hnedé body sucho merané po expozícii na vysokú teplotu (42 °C)