

JANUSZ BOGDAN^{1,2}BARBARA ZAGDAŃSKA^{1,3}¹ Katedra Biochemii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa² Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa³ Zakład Biochemii i Fizjologii Roślin Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Radzików

Odporność pszenicy jarej na suszę w fazie kiełkowania i wzrostu siewki

Drought resistance of spring wheat during germination and seedling growth

Załamanie zdolności do tolerowania odwodnienia przez siewki wybranych losowo 10 odmian i rodów pszenicy jarej (*Triticum aestivum* L.) przypada na 5 dzień kiełkowania. Zbiega się to z okresem intensywnego wycofywania rezerw pokarmowych z ziarniaka i akumulacji suchej masy w organach wegetatywnych. Ponowne uwodnienie siewek 4-dniowych prowadzi do odzyskania prawie całkowitej przeżywalności, podczas gdy w przypadku roślin 6-dniowych — do jej drastycznej redukcji. Zjawisko to wydaje się mieć genetycznie utrwalony charakter.

Słowa kluczowe: kiełkowanie, pszenica jara, tolerancja odwodnienia, wzrost siewki.

Dehydration tolerance of seedlings of ten cultivars and strains of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) was drastically lowered on the 5th day of germination. The “break” in dehydration tolerance is coincident with intensive mobilisation of seed grain reserves and accumulation of dry mass in vegetative organs. Following rehydration, survival of 4-day old seedlings was almost complete, whereas survival of 6-day old seedlings was drastically reduced. The observed phenomenon seems to be genetically determined.

Key words: dehydration tolerance, germination, seedling growth, spring wheat.

WSTĘP

Odwodnienie komórki jest jednym z podstawowych następstw wspólnym wielu stresom środowiskowym takim jak zasolenie, susza, chłód, mróz czy przegrzanie (Bohnert i in., 1995; Bohnert i Jensen, 1996), na które narażona jest niemal każda roślina, i które w wielu regionach Ziemi stanowią czynnik — jeśli nie uniemożliwiający, to znacznie ograniczający produkcję roślinną (Boyer, 1982). Wydaje się jednak, iż podstawowym — zwłaszcza w ostatniej dekadzie — czynnikiem ekologicznym warunkującym powodzenie upraw polowych jest rozkład i częstotliwość opadów atmosferycznych. Tereny o niedostatecznej wilgotności zajmują obecnie blisko 20% powierzchni użytków rolnych,

i odsetek ten — zdaniem wielu klimatologów badających następstwa „efektu cieplarnianego” — będzie wzrastał w nadchodzącym dziesięcioleciu. W warunkach klimatu Polski okresowy niedobór wody jest również jednym z ważniejszych czynników środowiska ograniczających plon roślin uprawnych, w tym zbóż — szczególnie jarych, które nie korzystają z zimowych zapasów wody w glebie (Zagdańska, 1997). Wydaje się zatem, iż stopień odporności na okresowy niedobór wody w podłożu, a tym samym odwodnienie tkanek stanowić będzie jedno z podstawowych kryteriów, decydujące o wprowadzeniu danej odmiany na rynek.

Zdolność roślin do tolerowania deficytu wody zależy od ich wieku i stadium rozwoju ontogenetycznego, a także czasu trwania oraz nasilenia suszy (Palta, 1990; Bray, 1997). Tolerancja odwodnienia wśród okrytozalążkowych jest zjawiskiem stosunkowo rzadkim; tylko nasiona i ziarna pyłku kwiatowego większości gatunków tych roślin dobrze znoszą warunki suszy (Blum, 1996; Bray, 1997). Dlatego dotychczasowe badania nad zdolnością roślin do tolerowania głębokiego odwodnienia koncentrują się głównie na mchach (Oliver, 1996), „roślinach zmartwychwstających” (ang. resurrection plants, Ingram i in., 1997) oraz pęczniejących nasionach (Bewley, 1997).

Zdolność kielkujących zarodków do tolerowania odwodnienia w miarę postępującej imbibicji stopniowo maleje (Kermode, 1990; Blum, 1996). Kielkowanie, to zespół następujących po sobie procesów indukowanych podaniem wody, których wynikiem jest aktywacja zarodka prowadząca do elongacji osi zarodkowej (Bewley i Black, 1994; Bewley, 1997). Rozpoczyna się ono od imbibicji. Proces ten jest zjawiskiem czysto fizycznym, wynikającym z niskiego potencjału macierzowego suchych nasion (Welbaum i Bradford, 1990; Bewley i Black, 1994). Stadium imbibicji charakteryzuje się gwałtownym wzrostem oddychania — początkowo beztlenowego, ustępującego miejsca tlenowemu (Ehrenschaft i Brambl, 1990; Botha i in., 1992; Bewley i Black, 1994). W tym czasie rozpoczyna się intensywne uruchamianie rezerw nasiennych na skutek wzrostu siewki (Bewley, 1997). Oceniając morfologicznie, inicjacji wzrostu odpowiada pojawienie się korzenia zarodkowego; w tym momencie kończy się kielkowanie, a rozpoczyna wzrost siewki. W praktyce rolniczej, zgodnie z normami ISTA (2002), kryterium zakończenia kielkowania jest ukazanie się liścieni lub pierwszego liścia właściwego (PN, 1994).

Celem przeprowadzonych badań było sprawdzenie, czy w obrębie pszenicy jarej (*Triticum aestivum* L.) istnieje zróżnicowanie pod względem zdolności siewek do tolerowania odwodnienia i określenie etapu w rozwoju siewki, podczas którego traci ona zdolność do tolerowania odwodnienia.

MATERIAŁ I METODY

Materiał roślinny

Doświadczenia przeprowadzono na 11 odmianach i rodach pszenicy jarej (*Triticum aestivum* L.). Przed wysiewem ziarniaki pszenicy były powierzchniowo sterylizowane poprzez 20-minutowe traktowanie 1% NaOCl, a następnie kilkakrotnie przepłukiwane wodą destylowaną. Celem zapewnienia równomiernych wschodów materiał siewny poddawano 24-godzinnej imbibicji w wodzie o temp. 4°C.

Warunki kiełkowania i wzrostu siewek

Napęczniałe ziarniaki wykładano na wilgotną, jałową gazę, rozpiętą na szklanych cylindrach usytuowanych w plastikowych pojemnikach. Naczynia wypełniano do ⅓ wysokości wodą destylowaną.

Doświadczenia przeprowadzono w fitotronie w następujących warunkach: temperatura 22/18°C (dzień/noc); wilgotność względna powietrza 60%–70%; długość dnia/nocy — 16/8 godz. lub 0/24 godz.; natężenie napromieniowania 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; ciągła, wymuszona aeracja systemu korzeniowego.

Począwszy od imbibicji, aż do 8 dnia kiełkowania siewki poddawane były 4-dobowemu odwodnieniu poprzez ich wyjęcie z wody, przy jednoczesnym utrzymaniu pozostałych warunków doświadczenia na niezmiennym poziomie.

Oznaczenie deficytu wody

Deficyt wodny siewek określono metodą Stockera (1929). Uwadnianie siewki (odciętej od pozostałości ziarniaka) do pełnego turgoru prowadzono w ciemności przez 24 godz. w komorze wysyczonej parą wodną w temperaturze 18°–20°C. Wielkość deficytu wodnego wyliczono ze wzoru:

$$WSD = \frac{z_w - a_{zwt}}{(z_w - s_{mt})} \times 100\%$$

gdzie:

z_w — zawartość wody przy pełnym turgorze,

a_{zwt} — aktualna zawartość wody w tkance,

s_{mt} — sucha masa tkanki.

Oznaczanie zdolności do tolerowania odwodnienia

Zdolność siewek do tolerowania odwodnienia oceniano na podstawie przeżywalności siewek, rozumianej jako procent roślin, które podjęły wzrost po 24-godzinym nawodnieniu, następującym bezpośrednio po 4-dobowej suszy.

Oznaczenie suchej masy

Suchą masę oznaczano przez ważenie próbek materiałowych bezpośrednio po wyjęciu z suszarki, w której przebywały przez 24 godz. w temp. 105°C.

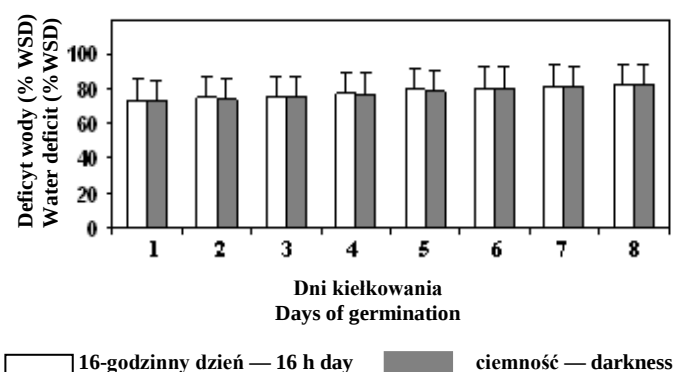
Opracowanie statystyczne wyników

Uzyskane wyniki poddano 2- lub 3-czynnikowej analizie wariancji. Zilustrowane na wykresach wartości stanowią średnią z trzech powtórzeń biologicznych i trzech powtórzeń chemicznych ($n = 9$). Interpretację danych przeprowadzono w oparciu o wartość NIR wyliczoną według testu Tukeya przy poziomie istotności $P < 0,05$.

WYNIKI I DYSKUSJA

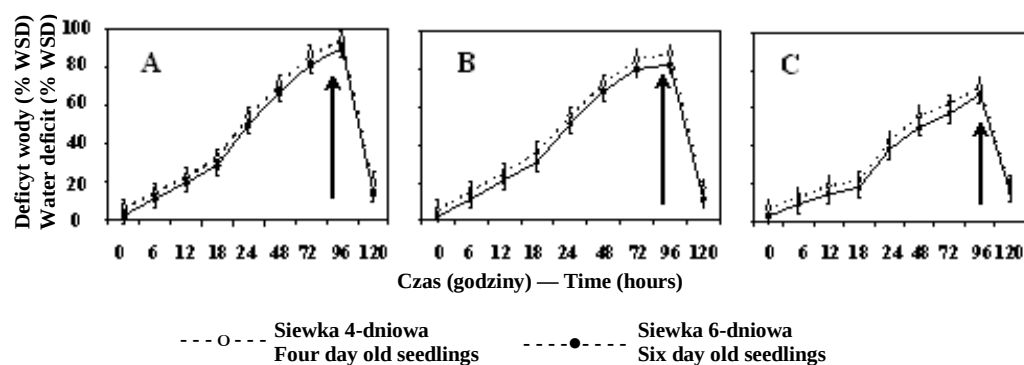
Przeprowadzone doświadczenia wstępne wykazały, iż siewki pszenicy jarej odmiany Eta poddane 4-dobowemu odwadnianiu osiągały porównywalny deficyt wody (75%–85% WSD) niezależnie od wieku i warunków fotoperiodycznych (rys. 1). Stopień odwodnienia (wyrażony w % WSD) korzeni (rys. 2 A), koleoptyla (rys. 2 B) i ziarniaka (rys. 2 C) roślin 4- i 6-dniowych w kolejnych godzinach suszy był porównywalny.

Siewki pszenicy jarej odmiany Eta w przyjętych warunkach doświadczenia zachowywały zdolność do tolerowania odwodnienia (wyrażoną jako przeżywalność [%], czyli zdolność młodych roślin do wznowienia wzrostu po ich ponownym uwodnieniu) znacznie dłużej, tj. do czwartego dnia kiełkowania (rys. 3). W tym czasie po ustąpieniu suszy wzrost podjęło 90–95% roślin. Spostrzeżenie to wskazuje, że nie istnieje bezpośrednia zależność pomiędzy głębokim odwodnieniem rośliny (rys. 1 i 2) oraz jej przeżywalnością w okresie kiełkowania i wschodów.



Rys. 1. Wpływ 96-godzinnej odwodnienia na wielkość deficytu wody (wyrażonego w % WSD) siewek pszenicy jarej odm. Eta rosnących w warunkach 16-godzinnej dnia lub w ciemności

Fig. 1. Effect of 96 h dehydration on water deficiency (expressed as % WSD) of spring wheat seedlings of Eta cv. grown at 16 h day or in darkness

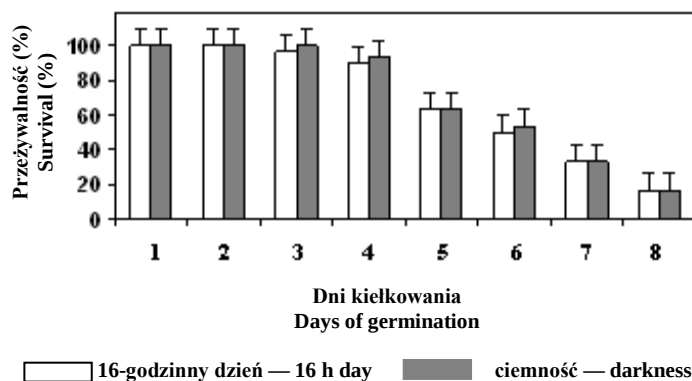


Rys. 2. Stopień odwodnienia tkanek (wyrażony jako % WSD) korzenia (A), koleoptyla (B) i ziarniaka (C) siewek 4- oraz 6-dniowych poddanych 96-godzinnej suszy i ponownemu uwodnieniu. Moment dodania wody wskazano strzałką

Fig. 2 Water deficiency (expressed as % WSD) in roots (A), coleoptile (B) and grain (C) of 4 day old and 6 day old seedlings subjected to 96 h drought and rewatering. Arrow indicates the time of rewatering

Stwierdzona utrata zdolności tkanek do tolerowania odwodnienia wydaje się być bardziej związana ze stadium wzrostu siewki. Gwałtowne załamanie tolerancji

odwodnienia miało miejsce wraz z pojawieniem się pierwszego liścia właściwego, tj. 5. dnia kiełkowania, kiedy to siewki przeżywały w ok. 65%. Wielkość ta malała z każdą kolejną dobą wzrostu, aby 8 dnia kiełkowania osiągnąć wartość bliską 20%.

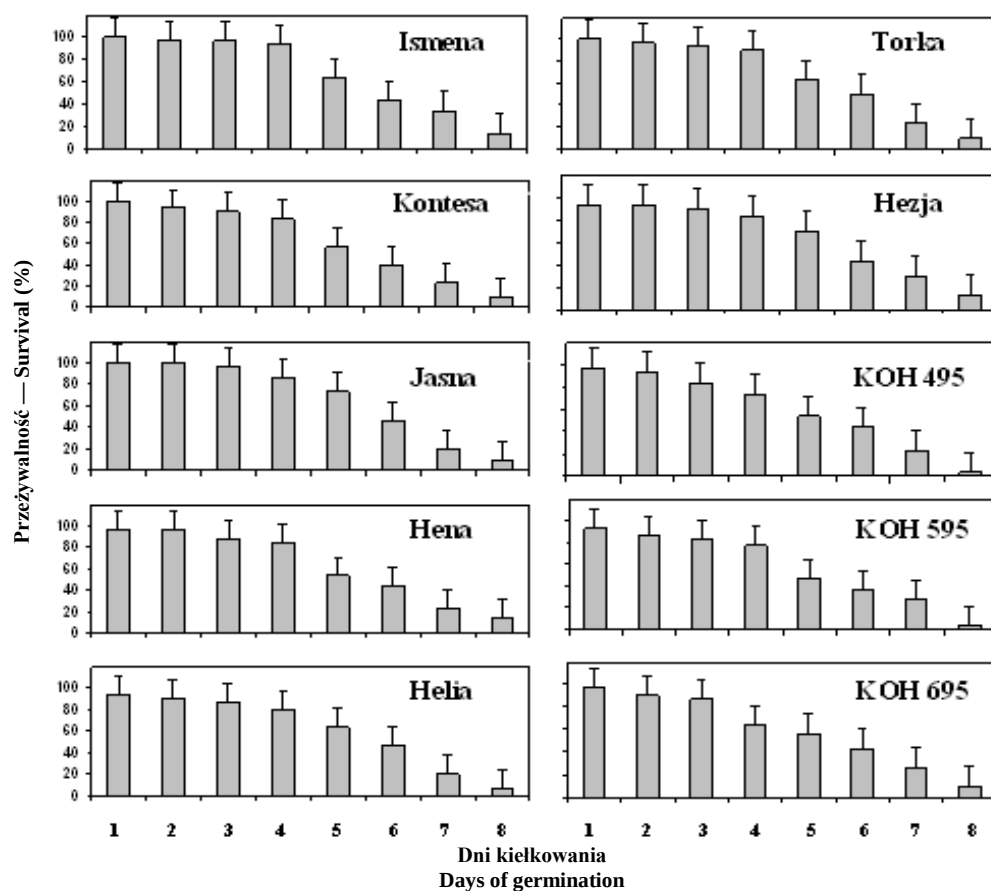


Rys. 3. Tolerancja odwodnienia (wyrażona w % przeżywalności roślin po 4-dobowej suszy) siewek pszenicy jarej odm. Eta rosnących w warunkach 16-godzinnej doby lub w ciemności
Fig. 3. Dehydration tolerance (expressed as % plant survival of 4 day drought) of spring wheat of Eta cv. grown at 16 h day or in darkness

Fotosynteza przypuszczalnie nie ma na tym etapie rozwoju większego znaczenia, na co wskazują wyniki eksperymentów przeprowadzonych na kukurydzy dowodzące, że nawet w drugim liściu właściwym ekspresja genów odpowiedzialnych za intensywność asymilacji CO₂ jest niska (Loza-Tavera i in., 1990). Tak więc, podstawowym źródłem związków węgla dla 1–8-dniowych siewek pszenicy pozostają materiały zapasowe endospermy (Bewley i Black, 1978), których wyczerpywanie, przy jeszcze nie w pełni funkcjonalnym aparacie fotosyntetycznym może w znacznym stopniu wpływać na utratę zdolności siewek do tolerowania głębokiego odwodnienia (Miazek i in., 2001).

Punkt krytyczny utraty tolerancji odwodnienia został potwierdzony na siedmiu innych, obecnie uprawianych odmianach pszenicy jarej oraz na dwóch rodach będących w doświadczeniach Centralnego Ośrodka Badań Odmian Roślin Uprawnych (rys. 4). Spośród przebadanych rodów tylko u KOH 695 załamanie tolerancji następowało dobie wcześniej. Wyniki te potwierdzają obserwacje Milthorpe (1950), Bluma i in. (1980) oraz Guedira i wsp. (1997), że zwiększoną wrażliwość pszenicy jarej na niedostatek wody obserwuje się dopiero w momencie wykształcania się pierwszego liścia właściwego. Cecha ta jest charakterystyczna dla większej ilości odmian i rodów pszenicy jarej o różnym pochodzeniu, co wskazuje, iż forma jara pszenicy charakteryzuje się genetycznie zdeterminowaną zdolnością tolerowania odwodnienia do 4 dnia wzrostu.

Pomimo opublikowania w ostatnim dziesięcioleciu ponad 5000 prac dotyczących kiełkowania nasion, ciągle nie jest dostatecznie jasne, dlaczego większość gatunków roślin obniża zdolność do tolerowania głębokiego odwodnienia zazwyczaj tuż po przebicciu okryw nasiennych przez kiełkujący zarodek (Bartels i in., 1996; Bewley, 1997).



Rys. 4. Porównanie zdolności do tolerowania odwodnienia (wyrażonej w % przeżywalności) siewek wybranych odmian i rodów pszenicy jarej

Fig. 4. Comparison of dehydration tolerance (expressed as % of survival) of seedlings of various cultivars and strains of spring wheat

Tym bardziej nie jest zrozumiałe, dlaczego siewki pszenicy jarej tracą tę zdolność znacznie później. Można przypuszczać, że krytyczny moment w tolerancji odwodnienia zbiega się z zakończeniem intensywnych podziałów i różnicowania się komórek oraz rozpoczęciem fazy wzrostu elongacyjnego (Wiedenroth i in., 1990), procesu najbardziej wrażliwego na niedobory wody (Hsiao, 1973). Ponadto, przechodzenie siewki z heterotrofizmu na autotrofizm wiąże się z gruntowną przebudową metabolizmu węglowodanów (Turgeon, 1989), a jej intensywny wzrost i rozwój oraz sprawna osmoregulacja zapobiegająca utracie wody z tkanek zależą w dużym stopniu od metabolitów pochodzących z sacharozy, które dostarczają zarówno szkieletów węglowych jak i energii do syntezy różnorodnych związków (Thomas i Rodriguez, 1994). Wyjaśnienie przyczyn gwałtownego załamania zdolności siewek do tolerowania odwodnienia wymaga więc dalszych badań.

WNIOSKI

1. Siewki pszenicy jarej tracą zdolność do tolerowania głębokiego odwodnienia znacznie później niż siewki większości przebadanych pod tym kątem gatunków, tj. w fazie wykształcania pierwszego liścia właściwego.
2. Obniżenie zdolności siewek pszenicy do tolerowania odwodnienia jest cechą gatunkową, a nie odmianową.

LITERATURA

- Bartels D., Furini A., Ingram J., Salamini F. 1996. Responses of plants to dehydration stress: a molecular analysis. *Plant Growth Regul.* 20: 111 — 118.
- Bewley J. D. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9: 1055 — 1066.
- Bewley J. D., Black M. 1978. *Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination*. Springer-Verlag, Berlin.
- Bewley J. D., Black M. 1994. *Seeds: physiology of development and germination*. Plenum Press, New York.
- Blum A. 1996. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. *Plant Growth Regul.* 20: 135 — 148.
- Blum A., Sinmena B., Ziv O. 1980. An evaluation of seed and seedling drought tolerance screening tests in wheat. *Euphytica* 29: 727 — 736.
- Bohnert H. J., Jensen R. G. 1996. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends Biotechnol.* 14: 89 — 97.
- Bohnert H. J., Nelson D. E., Jensen R. G. 1995. Adaptation to environmental stresses. *Plant Cell* 7: 1099 — 1111.
- Botha F. C., Potgieter G. P., Botha A. M. 1992. Respiratory metabolism and gene expression during seed germination. *Plant Growth Regul.* 11: 211 — 224.
- Boyer J. S. 1982. Plant productivity and environment. *Science* 218: 444 — 448.
- Bray E. A. 1997. Plant responses to water deficit. *Trends Plant Sci.* 2: 48 — 54.
- Ehrenschaft M., Brambl R. 1990. Respiration and mitochondrial biogenesis in germinating embryos of maize. *Plant Physiol.* 93: 295 — 304.
- Guedira M., Shroyer J. P., Kirkham M. B., Paulsen G. M. 1997. Wheat coleoptile and root growth and seedling survival after dehydration and rehydration. *Agron. J.* 89: 822 — 826.
- Hsiao T. C. 1973. Plant responses to water stress. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 24: 525 — 532.
- Ingram J., Chandler J. W., Gallagher L., Salamini F., Bartels D. 1997. Analysis of cDNA clones encoding sucrose-phosphate synthase in relation to sugar interconversion associated with dehydration in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Hochst. Plant Physiol.* 115: 113 — 121.
- International Seed Testing Association (ISTA). *International Rules for Seed Testing*. Edition 2002. Przepisy ISTA. 2002 + uzupełnienia. Wyd. IHAR, Radzików.
- Kermode A. R. 1990. Regulatory mechanism involved in the transition from seed development to germination. *Crit. Rev. Plant Sci.* 9: 155 — 195.
- Loza-Tavera H., Martinez-Barajas E., Sanchez-de-Jimenez E. 1990. Regulation of ribulose-1.5-bisphosphate carboxylase expression in second leaves of maize seedlings from low- and high-yield populations. *Plant Physiol.* 93: 541 — 548.
- Miażek A., Bogdan J., Zagdańska B. 2001. Effects of water deficit during germination of wheat seeds. *Biol. Plant.* 44: 397 — 403.
- Milthorpe F. L. 1950. Changes in the drought resistance of wheat seedlings during germination. *Ann. Bot.* 14: 79 — 89.
- Oliver M. J. 1996. Desiccation tolerance in vegetative plant cells. *Physiol. Plant.* 97: 779 — 787.
- Palta J. P. 1990. Stress interactions at the cellular and membrane levels. *Hort. Sci.* 25: 1377 — 1381.
- Polska Norma. 1994. PN-94/R-65950. Wyd. Norm. Warszawa.
- Stocker O. 1929. Das Wasserdefizit von Gefäßpflanzen in verschiedenen Klimazonen. *Planta* 7: 382 — 387.

- Thomas B. R., Rodriguez R. L. 1994. Metabolite signals regulate gene expression and source/sink relations in cereal seedlings. *Plant Physiol.* 106: 1235 — 1239.
- Turgeon R. 1989. The sink-source transition in leaves. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40: 119 — 138.
- Wiedenroth E. M., Wernicke G., Hoffmann P. 1990. Morphological and anatomical characterization of the coleoptile of *Triticum aestivum* with regard to the evolution of forms with different ploidy levels. *Ann. Bot.* 66: 531 — 540.
- Welbaum G. E., Bradford K. J. 1990. Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.). Water relations of imbibition and germination. *Plant Physiol.* 92: 1046 — 1062.
- Zagdańska B. 1997. Mechanizmy odporności zbóż na suszę glebową: metabolizm energetyczny pszenicy jarej w nabywaniu odporności. *Biul. IHAR* 203: 41 — 55.