



ФОТОСИНТЕТИЧНА РЕАКЦИЯ НА РАСТЕНИЯ ОТ ТРИ СОРТА ПАМУК КЪМ ПОЧВЕНО ЗАСУШАВАНЕ

АНДОН ВАСИЛЕВ¹, МИНКА КОЛЕВА²

¹Аграрен университет – Пловдив, 4000 Пловдив

²Институт по памука и твърдата пшеница, 6200 Чирпан

PHOTOSYNTHESIS RESPONSE OF PLANTS FROM THREE COTTON CULTIVARS TO SOIL DROUGHT

ANDON VASSILEV¹, MINKA KOLEVA²

¹Agricultural University – Plovdiv, 4000 Plovdiv

²Cotton and durum wheat research institute – 6200 Chirpan

Abstract

The photosynthesis responses of three cotton cultivars Helius, Avangard-264 and Chirpan-539 to drought during flowering-boll formation stage were studied. Drought stress (35-40% of field water capacity) significantly depressed net photosynthetic rate and photosynthetic pigments content but had little effect on apparent electron transport rate of cotton plants from all cultivars. Following the model of Long and Bernacchi (2003), it was calculated that the drought enhanced photorespiration to prevent cotton photosynthetic apparatus from oxidative damages. Among the studied cultivars, the highest tolerance showed cv. Chirpan-539. Net photosynthetic rate in the drought-stressed plants from this cultivar was diminished in the lowest degree and fully recovered soon after the stress.

Key words: cotton, cultivars, drought, photosynthesis, chlorophyll fluorescence

УВОД

Памукът у нас традиционно се отглежда при неполивни условия и разпространените в производството сортове се отличават с добра толерантност към засушаване (Божинов и съавт., 2000). През последните години се наблюдава трайна тенденция към повишаване на температурите и намаляване на почвената и атмосферната влажност. В тези условия добивите от памука намаляват, а качеството на влакното се влошава, поради което толерантността към засушаване става все по-важна характеристика на съвременните сортове.

В сравнение с други селскостопански култури проучванията върху толерантността на памука към засушаване са ограничени (Ullah et al., 2008). Счита се, че памукът се адаптира към почвено засушаване чрез поддържане на висока транспирация, осигурена от мощната му коренова система (Inamullah

and Isoda, 2005a). Високата транспирация съхранява оводнеността, охлажда и предпазва фотосинтетичния апарат на памука от значителни увреждания, които при същите условия се проявяват в други култури, например соя.

В скринингови изследвания с 32 сорта памук Ullah et al. (2008) установяват, че по-високата скорост на фотосинтезата в условия на засушаване при някои сортове памук кореспондира с по-мощна коренова система на растенията и респективно с по-висока толерантност. Положителната корелация, бързината и недеструктивният характер на измерване на листния газов обмен дават основание на авторите да препоръчат скоростта на фотосинтезата като евентуален селекционен критерий. Други автори не установяват съществени различия в скоростта на фотосинтезата между памукови растения, отглеждани при оптимална влажност и при умерено засушаване (Massacci et al., 2009). Противоречивите резултати вероятно се дължат на различия в силата на приложения воден стрес, както и на биологични особености на изследваните генотипове.

Възможността за използване на фотосинтетични параметри като селекционен критерий за толерантност на памука към засушаване на настоящия етап е дискуссионна. Необходими са допълнителни проучвания, насочени към по-пълно характеризиране на фотосинтетичния отговор на памука към засушаване, както и установяване на съществени корелации между определени фотосинтетични параметри и продуктивността на памука в тези условия.

Целта на проведеното изследване беше да се сравни фотосинтетичната активност на три сорта памук при засушаване в критичния период цъфтеж-плодообразуване и след възстановяване от стреса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Съдовите опити са изведени в Института по памука и твърдата пшеница – Чирпан в периода 2007-2009 г. със сортовете Хелиус, Авангард-264 и Чирпан-539. Експерименталната постановка на опитите е описана подробно по-рано (Колева и Василев, 2010). Накратко, растенията от трите сорта са отглеждани при оптимална почвена влажност 70-75% от ППВ. Във фенофаза цъфтеж-плодообразуване поливането на половината от съдовете е преустановено до достигане на почвена влажност 35-40% от ППВ. Редуцираната почвена влажност е поддържана тегловно в продължение на една седмица; след което е възстановена оптималната влажност.

Определено е влиянието на засушаването върху листния газов обмен, фотосинтетичните пигменти, основни параметри на хлорофилната флуоресценция и водният потенциал на листата. Газометричните и флуоресцентни анализи са извършени 7 дни след началото на засушаването, и 7 дни след възстановяването на почвената влажност. Останалите анализи са извършени само в периода на засушаване. Листният газов обмен е изследван през трите опитни години, като е установено, че засушаването предизвиква сходни тенденции на промяна в основните параметри. Представените резултати в настоящата работа са от опита през 2008 г., когато са проведени и изследвания върху хлорофилната флуоресценция и фотосинтетичните пигменти.

За всички анализи са използвани последните напълно развити листа от централното стъбло на растенията от върха надолу. Измерванията на

листния газов обмен (A - скорост на фотосинтезата, E – интензивност на транспирацията и g_s – устична проводимост) са извършени с фотосинтетичната система LCA-4 (ADC, England), между 10.00 и 12.00 часа, при интензивност на светлината (ФАР) над $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Хлорофилната флуоресценция е измерена в същите листа с апарата MINI-PAM (H. Walz, Germany). Максималната ефективност на ФС2 (F_v/F_m) е определена след 60-минутно тъмнинно адаптиране, а действителният квантов добив (Y) и скоростта на фотосинтетичния електронен транспорт (ETR; $\text{ETR} = Y \cdot 0.84 \cdot \text{ФАР} \cdot 0.5$; Handbook of operation with MINI-PAM, 1996) са определени след 30-минутно светлинно адаптиране. Фотосинтетичните пигменти са екстрахирани с 80% ацетон, а количеството им е изчислено съгласно Lichtenthaler (1987). Водният потенциал на листата е определен с камера за налягане (ELE International, England). Всички анализи са извършени в 3 до 8-кратна повторност. Получените резултати са обработени чрез двуфакторен дисперсионен анализ. Достоверността на разликите между вариантите е преценена чрез критерия LSD при $P \leq 5\%$.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Приложеното почвено засушаване предизвика опадване на долните листа на памуковите растения и потискане на растежа (Колева и Василев, 2010). Водният потенциал на листата в контролните растения на трите сорта беше в границите $-20 \div -22$ бара, а в засушените – над -30 бара, което показва, че в края на периода на засушаване, растенията изпитват умерен воден стрес. В това физиологично състояние, отчетените стойности на листния газов обмен в засушените растения бяха съществено по-ниски от тези на контролните растения. В сравнителен аспект, най-силно бяха понижени газометричните стойности на растенията от сорт Хелиус, а най-слабо - при сорт Чирпан-539. Седем дни след началото на засушаването, скоростта на фотосинтезата (A) при растенията от сорт Хелиус беше намалена с 55%. Инхибицията на интензивността на транспирацията (E) и устичната проводимост (g_s) бяха още по-драстични, съответните стойности бяха понижени с 61% и 83%. Спадът на A в сорт Чирпан беше 41%, а намалението на E и g_s - съответно 50 % и 66 %.

Стойностите на показателите на стационарния листен газообмен измерени 7 дни след възстановяване на оптималната почвена влажност се различаваха коренно от измерените в условия на стрес. Напълно беше възстановена фотосинтетичната функция на растенията от сорт Чирпан, докато стойностите на A в растенията от сортовете Хелиус и Авангард-264 бяха по-ниски от контролите с 30 и 25%, съответно. Стойностите на E в сортовете Хелиус и Авангард-264 надвишаваха контролните, докато E в сорт Чирпан-539 беше със 7% по-ниска. Пълно възстановяване и известно повишаване на стойностите на g_s се наблюдаваше само в растенията от сорт Авангард-264.

Измерените стойности на листния газов обмен в контролните и подложени на умерен воден стрес памукови растения кореспондират с резултатите на Ullah et al. (2008), които установяват почти 50% инхибиция на A в засушени растения от 32 сорта. Тези автори посочват значителни различия в стойностите на A в отделните сортове, докато такива не бяха установени в нашите опити през трите опитни години.

Таблица 1. Влияние на почвеното засушаване върху листния газов обмен ($A - \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; $E - \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; $g_s - \text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) на растения от три сорта памук

Сорт	Варианти			
	Контрола	Засушен	Контрола	засушен
	По време на стрес		След възстановяване	
A				
Хелиус	16.56	7.34	15.50	10.85
Авангард-264	16.64	9.14	16.06	12.04
Чирпан-539	15.34	9.02	14.49	14.63
LSD 5%	1.50		1.19	
A – сорт	ns		*	
B – воден режим	*		*	
A x B	*		*	
E				
Хелиус	4.55	1.78	3.86	4.28
Авангард-264	4.54	1.92	4.03	4.37
Чирпан-539	4.01	1.99	4.61	4.27
LSD 5%	0.31		0.18	
A – сорт	ns		*	
B – воден режим	*		*	
A x B	*		*	
g_s				
Хелиус	0.381	0.063	0.335	0.313
Авангард-264	0.299	0.073	0.276	0.333
Чирпан-539	0.216	0.073	0.380	0.315
LSD 5%	0.039		0.044	
A – сорт	*		*	
B – воден режим	*		ns	
A x B	*		*	

* $P \leq 5 \%$

В таблица 2 са приведени данни за съдържанието и отношенията между фотосинтетичните пигменти в листата на контролните и подложени на засушаване памукови растения. И при трите сорта засушаването предизвиква значително намаляване на съдържанието на фотосинтетичните пигменти. Най-голямо е намалението при хлорофил а – с 36 % при сорт Чирпан-539, с 29 % при растенията от сорт Авангард-264 и с 8.8 при сорт Хелиус. Това може да се обясни с известната по-висока чувствителност на хлорофил а към стресови фактори. Намалението на хлорофил b е най-силно изразено при сорт Чирпан-539 – 43 % и съответно 29% и 14% за Авангард-264 и Хелиус. В най-малка степен засушаването се отразява на съдържанието на каротиноидите, което може да се обясни с биологичната им роля да защитават хлорофила от фотоокисление при стресови условия. Понижението на фотосинтетичните пигменти в засушените памукови растения кореспондира с данните на други автори (Inamullah and Isoda, 2005b).

Таблица 2. Влияние на почвеното засушаване върху съдържанието (mg / g) и отношенията между фотосинтетичните пигменти (хлорофил а, хлорофил b и каротиноиди) на растения от три сорта памук

Сортове	Варианти	Хл. а	Хл. b	a+b	Каротиноиди (к)	a/b	(a+b)/k
Хелиус	Контрола	1.600	0.707	2.297	0.597	2.283	3.860
	Засушен	1.460	0.610	2.070	0.580	2.393	3.570
Авангард-264	Контрола	1.580	0.627	2.207	0.567	2.530	3.910
	Засушен	1.127	0.447	1.567	0.487	2.553	3.210
Чирпан-539	Контрола	1.317	0.520	1.837	0.477	2.530	3.870
	Засушен	0.847	0.297	1.140	0.367	2.867	3.123
LSD 5%		0.20	0.11	0.32	0.08	0.14	0.17
Фактор А – сорт		*	*	*	*	*	*
Фактор В – воден режим		*	*	*	*	*	*
А x В		*	ns	ns	ns	*	*

* P ≤ 5 %

В таблица 3 са представени данни за основни параметри на хлорофилната флуоресценция в листата на памуковите растения от трите изпитвани сорта в условия на воден стрес и след възстановяване. Резултатите показват, че стойностите на F_v/F_m в стресирани и възстановени растения от всеки сорт са малко, но доказано по-ниски ($P \leq 5\%$), от съответните контроли. От друга страна, макар и по-ниски, стойностите на F_v/F_m , с малки изключения, са в интервала 0.75 – 0.82, който е характерен за неувредени листа (Bolhar-Nordenkampf and Oquist, 1993). Получените от нас резултати кореспондират с тези на Inamullah and Isoda (2005b) и показват, че фотосинтетичния апарат на засушените памукови растения е предпазен от значително фотоинхибиране.

В условия на стационарна фотосинтеза, потенциалната активност на ФС2 намалява поради редуциране на част от активните й центрове от светлинно-индуцирания електронен поток. По тази причина в светлинно адаптирани листа, действителната активност на ФС2 – \dot{Y} е по-ниска. Резултатите от таблица 3 показват, че стойностите на \dot{Y} и производната му величина ETR в контролните, засушените и възстановените растения не се различават съществено. Това означава, че фотохимичните процеси в подложените на умерен воден стрес памукови растения практически не са увредени. Към това заключение, най-общо, гравитират изводите на редица изследователи. Genty et al. (1987) не установяват значителни отклонения във фотохимичната активност на памукови растения в условия на изключително нисък воден потенциал. Inamullah and Isoda (2005b) посочват, че при намаление на A с 46%, понижението на \dot{Y} в засушени памукови растения не надвишава 20%. Получените от нас резултати показват още по-голяма разлика между стойностите на A (средна инхибиция 40-50%) и на \dot{Y} (практически непроменени) в засушените памукови растения.

В известна степен за изясняване на тази картина допринасят изследванията на Massacci et al. (2009) с фотосинтетичната система LI 6400, която позволява синхронно извършване на газометрични и флуоресцентни измервания. Авторите установяват, че стойностите на F_v/F_m и на ETR в засушените памукови растения не са по-ниски, а обратно, по-високи от тези в растенията, отглеждани при оптимална влажност. Те обясняват повишената фотохимична активност с активиране на фотодишането, което изчисляват на базата на данните за A и ETR по модела на Long and Bernacchi (2003).

В нашият опит газометричните и флуоресцентни измервания по технически причини не са извършени синхронно, а последователно, в едни и същи листа, с разлики във времето на определяне, не надвишаващи 30 минути. Това ни дава основание да приложим модела на Long and Bernacchi (2003), същността на който е следната. За фиксиране на една молекула CO_2 теоретично е необходимо по електронно-транспортната верига да преминат 4 електрона, поради което авторите приемат, че приблизителната стойност на фотодишането може да се изчисли като стойностите на ETR се разделят на 4 и от тях се извади стойността на A . Алгебрично операцията е възможна поради еднаквите размерности на двете величини ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Използвайки посочения модел и стойностите на A и ETR от таблица 1 и таблица 3, ние

изчислихме, че скоростта на фотодишането в растенията от засушените варианти на сортовете Хелиус, Авангард-264 и Чирпан-539 е повишена със съответно 78, 89 и 44%. Биологичният смисъл на тази реакция е свързан с адаптация на растенията към засушаване чрез пренасочване на фотосинтетичния електронен поток към други акцептори на електрони. Драматичното намаляване на g_s в условия на засушаване силно ограничава достъпа на CO_2 до хлоропластите. Това води до засилване на оксигеназната функция на основния фотосинтетичен ензим Рубиско, в резултат на което се активира фотодишането. Крайният резултат от тази метаболитна особеност е предпазване на фотосинтетичната електронно-транспортната верига от прередуциране и окислителни увреждания за сметка на намаляване на стойностите на А. Тази реакция към засушаване е характерна за всички растения с С-3 въглероден метаболизъм, към които спада и памукът. На базата на получените резултати, можем да заключим, че фотосинтетичният апарат на памука ефективно се предпазва от воден стрес чрез висока транспирация и активиране на фотодишането.

Таблица 3. Влияние на почвеното засушаване върху основни параметри на хлорофилната флуоресценция (F_v/F_m ; Y; ETR) в растенията от три сорта памук

Сорт	Варианти			
	Контрола	засушен	контрола	засушен
	По време на стрес		След възстановяване	
	F_v/F_m			
Хелиус	0.810	0.765	0.810	0.763
Авангард-264	0.783	0.738	0.770	0.760
Чирпан-539	0.793	0.743	0.808	0.790
LSD 5%	0.010		0.025	
A – сорт	*		*	
B – воден режим	*		*	
A x B	ns		ns	
Y				
Хелиус	0.587	0.579	0.565	0.605
Авангард-264	0.578	0.614	0.593	0.599
Чирпан-539	0.551	0.567	0.615	0.609
LSD 5%	0.077		0.048	
A – сорт	ns		ns	
B – воден режим	ns		ns	
A x B	ns		ns	
ETR				
Хелиус	113.70	114.00	143.01	127.91
Авангард-264	107.08	113.03	142.75	137.90
Чирпан-539	107.28	102.38	150.80	135.19
LSD 5%	15.51		16.11	
A – сорт	ns		ns	
B – воден режим	ns		*	
A x B	ns		ns	

* $P \leq 5\%$

ИЗВОДИ

1. Приложеното почвено засушаване във фенофаза цъфтеж-плодообразуване (35-40% ППВ) инхибира фотосинтетичната скорост, намалява съдържанието на фотосинтетичните пигменти, но не предизвиква съществени промени в скоростта на фотосинтетичния електронен поток в памукови растения от сортовете Хелиус, Авангард-264 и Чирпан-539. Моделните анализи показват, че в тези условия се активира фотодишането, което предпазва фотосинтетичния апарат на памука от увреждания.
2. С най-висока толерантност към засушаване се отличава фотосинтетичния апарат на сорта Чирпан-539. Понижението на скоростта на фотосинтезата в растенията от този сорт при засушаване е най-малко, а възстановяването след отминаване на стреса е най-бързо.

ЛИТЕРАТУРА

1. Божинов, Б., А. Василев, Л. Димитрова 2000. Сравнително изпитване на фотосинтетичната активност на два сорта памук – Чирпан 603 (*G. Hirsutum* L.) и С-6037 (*G. Barbadosense* L.) в условия на засушаване и високи температури. Растениевъдни науки, 37, 452-458.
2. Колева, М., А. Василев, 2010. Влияние на почвеното засушаване във фенофаза цъфтеж-плодообразуване върху продуктивността на три сорта памук. Аграрни науки, 4 (под печат)
3. Bolhar-Nordenkamp, H. R., G. Oquist. 1993. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: Photosynthesis and Production in a changing environment: a field and laboratory manual. Hall, D. O., J. M. O. Scurlock, H. R. Bolhar-Nordenkamp, R. C. Leegood and S. P. Long, Eds., Chapman and Hall, London, 193-205.
4. Genty, B., J. M. Briantais, J. B. Vieira da Silva, 1987. Effects of drought on primary photosynthetic processes in cotton leaves. *Plant Physiol.*, 83, 360-364.
5. Handbook of operation with MINI-PAM, 1996. Heinz Walz, Germany.
6. Inamullah, A. Isoda, 2005a. Adaptive responses of soybean and cotton to water stress. I. Transpiration changes in relation to stomatal area and stomatal conductance. *Plant Production Science*, 8, 16-26.
7. Inamullah, A. Isoda, 2005b. Adaptive responses of soybean and cotton to water stress. II. Changes in CO₂ assimilation rate, chlorophyll fluorescence and photochemical reflectance index in relation to leaf temperature. *Plant Production Science*, 8, 131-138.
8. Lichtenthaler, H., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods of Enzymology*, 1987, 148, 350-382.
9. Long S. P., C. J. Bernacchi, 2003. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis. Procedures and sources of error. *J. Exp. Bot.*, 2393-2401.
10. Massacci, A., S. Nabiev, L. Pietrosanti, S. Nematov, T. Chernikova, K. Thor, J. Leipner, 2008. Response of the photosynthetic apparatus of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) to the onset of drought stress under field conditions studied by gas exchange analysis and chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Physiol. Biochem.*, 46, 189-195.
11. Ullah, I., M. Rahman, M. Ashraf, Y. Zafar, 2008. Genotypic variation for drought tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum* L.): Leaf gas exchange and productivity. *Flora*, 203, 105-115.