

ZMIANA AKTYWNOŚCI METABOLICZNEJ GROCHU PODCZAS INDUKOWANEGO DEFICYTU WODY W GLEBIE

*Jerzy Dziejowski*¹, *Gabriel Fordoński*², *Jacek Olszewski*²

¹ Katedra Chemii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

² Katedra Diagnostyki i Patofizjologii Roślin,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Wstęp

Reakcja roślin na deficyt wody w glebie polega na uruchomieniu fizykochemicznych, fizjologicznych i biochemicznych mechanizmów, zarówno w systemie korzeniowym jak i w części nadziemnej, w celu ograniczenia jej strat i utrzymania aktywności metabolicznej tkanki roślinnej. Wyjaśnieniu tych złożonych i nie zawsze w pełni wyjaśnionych mechanizmów poświęcono liczne opracowania [GÓRECKI, GRZESIUK 1978; BRADFORD, HSIAO 1982; WEIDNER 1986; STARCK i in. 1995; CHAVES 1991; HARE, CRESS 1997; DAVIES i in. 1994; MAUREL 1997; JONES 1998; LEUNG, GIRAUDAT 1998; HARTUNG i in. 1999; STARCK 2002; STEUDLE 2000, 2002].

Bezpośrednie pomiary kalorymetryczne roślin mogą służyć do bioenergetycznej oceny zmian aktywności metabolicznej roślin poddanych stresom środowiskowym a w tym stresu wodnego [CRIDDLE i in. 1991]. Szybkość wydzielania ciepła z aktywnej metabolicznie tkanki roślinnej wynosi od 5 do 15 mW w przeliczeniu na 1 g suchej masy. Wartości te zależą od badanego organu, okresu wzrostu, czynników środowiskowych i innych [CRIDDLE, HANSEN 1999]. Większość badań kalorymetrycznych miała na celu wykazanie związku między metabolizmem roślin a temperaturą [HANSEN i in. 1996; SMITH i in. 1999] oraz była próbą modelowego opisu tych złożonych zależności [HANSEN i in. 1998]. Dostępna literatura zawiera niewiele danych łączących badania kalorespirometryczne z pomiarami intensywności fotosyntezy i transpiracji roślin poddanych stresowi wodnemu w okresach krytycznych dla ich wzrostu, np. kwitnienia.

Celem niniejszej pracy było wykazanie na podstawie pomiarów kalorespirometrycznych i pomiarów fotosyntezy zmian w aktywności metabolicznej liści grochu w różnych okresach rozwoju oraz w stanie glebowego deficytu wody indukowanego przed fazą tworzenia pąków i kwitnienia.

Materiał i metody badań

Doświadczenia wazonowe przeprowadzono w hali wegetacyjnej w maju i czerwcu 2000 roku. Użyto nasion grochu (*Pisum sativum* L.) odmiany Jaspis. Groch wzrastał na podłożu przygotowanym przez wymieszanie równej masy gleby

brunatnej i torfu oraz dodatkowo wzbogaconym nawozem mineralnym. W początkowym okresie doświadczenia w wazonach utrzymywano stałą, optymalną zawartość wody w glebie odpowiadającą 70% polowej pojemności wodnej (PPW). W połowie wazonów, przed fazą tworzenia pąków i kwitnienia, zawartość wody obniżono do około 30% PPW. Stan ten utrzymywano do końca eksperymentu.

Terminy poboru liści grochu do pomiarów kalorespirometrycznych, fotosyntezy i transpiracji podczas odpowiadających im faz wzrostu przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1; Table 1

Fazy wzrostu grochu i daty poboru liści
Phases of pea growth and dates of leaf sampling

Data poboru liści Date of leaf sampling	Fazy wzrostu grochu; Phases of pea growth
19 V	Trzeciego liścia; Third leaf
24 V	Czwartego, piątego liścia; Fourth – fifth leaf
31 V	Tworzenie pąków i początek kwitnienia; Buds formation and beginning of flowering
5 VI	Płaskich strąków; Flat pods
14 VI	Wypełnionych strąków; Ripe pods

Pomiary szybkości wydzielania ciepła wykonano w izotermicznym, sześciocelowym kalorymetrze. Cztery cele służyły jako pomiarowe a dwie jako porównawcze. Kalorymetr termostатовano utrzymując temperaturę 25°C z dokładnością $\pm 0,01^\circ\text{C}$, używając przepływowego regulatora temperatury DC30 firmy HAAKE. Sygnały pomiarowe z poszczególnych cel rejestrowano multimetrem 2700 Keithley jako zmiany napięcia prądu stałego (DCV). Każdą celę pomiarową kalibrowano metodą elektryczną w celu dokładnego ($\pm 0.01 \mu\text{W} \mu\text{V}^{-1}$) wyznaczenia współczynnika strat cieplnych, którego wartość odpowiadała $5,1\text{--}5,5 \mu\text{W} \cdot \mu\text{V}^{-1}$. Liście po oddzieleniu od łodygi transportowano do laboratorium (10–15 min) i poddawano analizie kalorymetrycznej. Szybkość wydzielania ciepła obliczano po osiągnięciu stanu równowagi termicznej co następowało po około 30–40 minutach pomiaru. Skorygowaną wartość odczytu sygnału pomiarowego (DCV) mnożono o wartość współczynnika strat cieplnych i przeliczano na 1 g suchej masy. Kalorespirometryczne badania liści prowadzono stosując metodę CRIDDLA i in. [1990]. Metoda ta polega na wykonaniu dwóch pomiarów kalorymetrycznych. Pierwszy pomiar wykonuje się oznaczając sumę szybkości wydzielania ciepła metabolicznego i ciepła sorpcji $\text{CO}_2(\text{g})$ w $0,4 \text{ mol NaOH} \cdot \text{dm}^{-3}$ ($\text{RHP}_{\text{met}} + \text{RHP}_{\text{CO}_2}$) i następnie przeprowadza drugi pomiar ciepła metabolicznego (RHP_{met}) ale po usunięciu roztworu sorpcyjnego. Ciepło sorpcji CO_2 (RHP_{CO_2}) jest miernikiem szybkości wydzielania CO_2 z liści. RHP_{CO_2} oblicza się odejmując od wartości ($\text{RHP}_{\text{met}} + \text{RHP}_{\text{CO}_2}$) wynik pomiaru RHP_{met} .

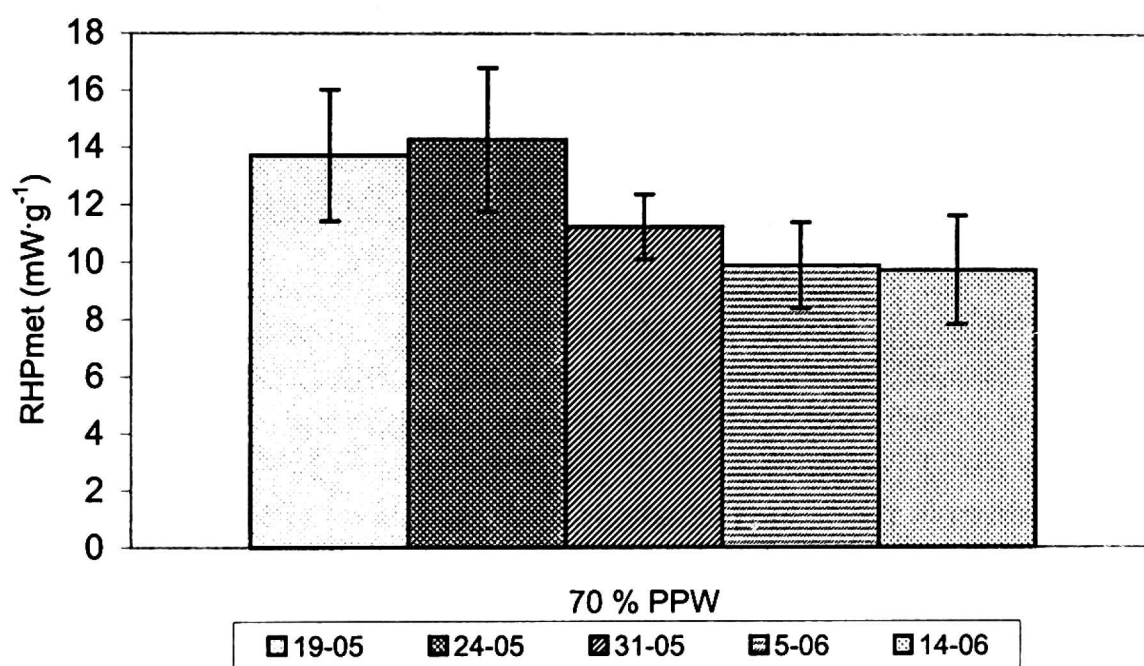
Entalpia reakcji $\text{CO}_2(\text{g})$ z $0,4 \text{ mol NaOH} \cdot \text{dm}^{-3}$ odpowiada $-108,5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Wielkość $\text{RHP}_{\text{CO}_2}/\text{RHP}_{\text{met}}$ nazywa się współczynnikiem kalorespirometrycznym. Zawartość suchej masy w liściach wyznaczano metodą wagową po 24 godzinnym suszeniu w temperaturze 70°C .

Pomiary fotosyntezy (PS), transpiracji (TR), temperaturę powietrza i temperaturę powierzchni liścia wykonano przenośnym analizatorem gazowym

LI-6400 firmy LI-COR na liściach nie oddzielonych od łodygi. Masa świeżych próbek liści przeznaczonych do analizy grawimetrycznej i kalorymetrycznej wynosiła od 0,5 do 0,9 g.

Wyniki i dyskusja

Wyniki pomiarów szybkości wydzielania metabolicznego ciepła z liści grochu, w różnych fazach wzrostu przy zawartości wody w glebie odpowiadającej 70% PPW przedstawiono na rysunku 1.

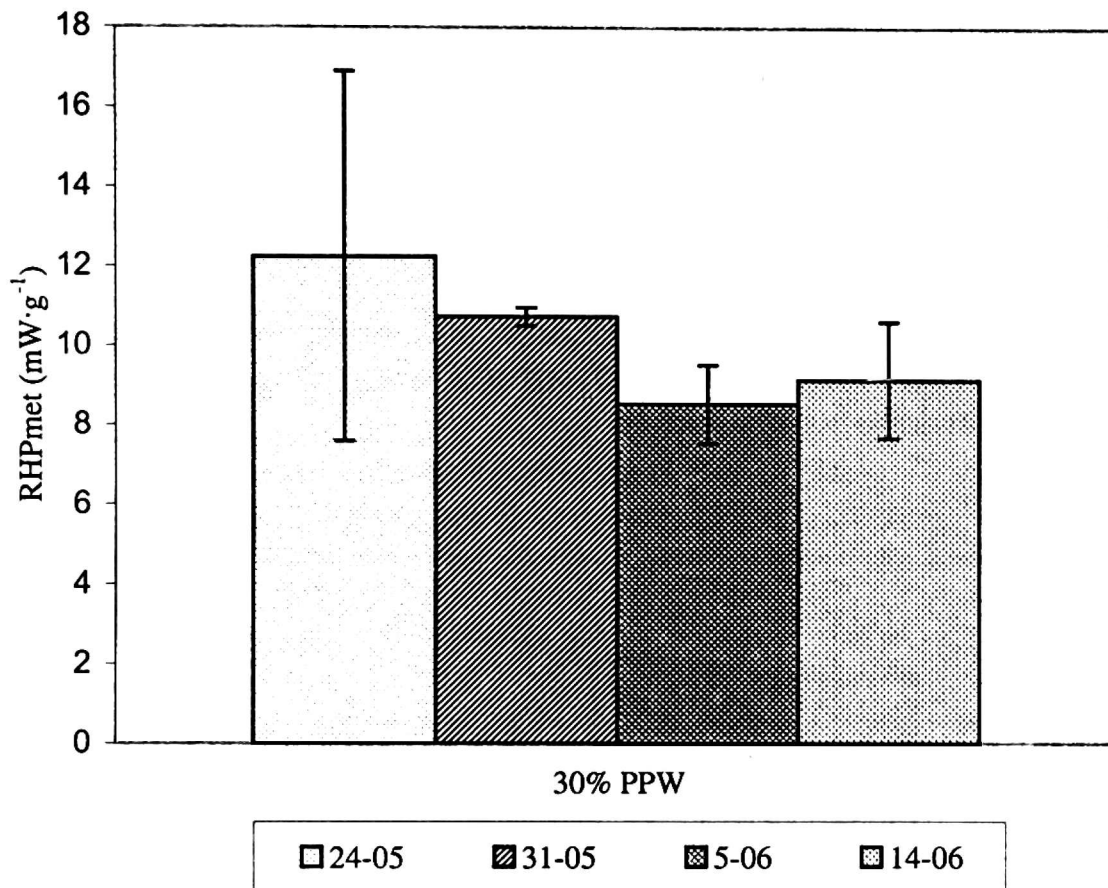


Rys. 1. Zmiany szybkości wydzielania metabolicznego ciepła (RHP_{met}) z liści grochu przy zawartości wody w glebie odpowiadającej 70% PPW

Fig. 1. Changes in the rate of metabolic heat production (RHP_{met}) by pea leaf at water content in soil equivalent to 70% water holding capacity (WHC)

W okresie po uformowaniu trzeciego liścia między 19 a 24 maja intensywność wydzielania ciepła z liści była większa w porównaniu z dalszymi wynikami pomiarów kalorymetrycznych. Okres ten odpowiada podwyższonej aktywności metabolicznej liści towarzyszącej dzieleniu się komórek i ich szybkiemu powiększaniu się. Dodatkowym czynnikiem, mogącym mieć wpływ na wzrost grochu, była wysoka temperatura powietrza sięgająca w tym okresie około 32°C. Wysokie wartości współczynnika kalorespirometrycznego 0,26–0,29 i RHP_{CO_2} równe 4,14 mW·g⁻¹ s.m. w analizowanym okresie badań (24 maja), przy optymalnej zawartości wody, również potwierdzają wysoką aktywność metaboliczną i intensywne ciemne oddychanie liści. Po fazie tworzenia pąków i kwitnienia temperatura otoczenia obniżyła się o około 4°C. Podczas kolejnych faz rozwojowych wartość RHP_{met} była niższa, osiągając 9,74 mW·g⁻¹ s.m. w fazie wypełniania strąków.

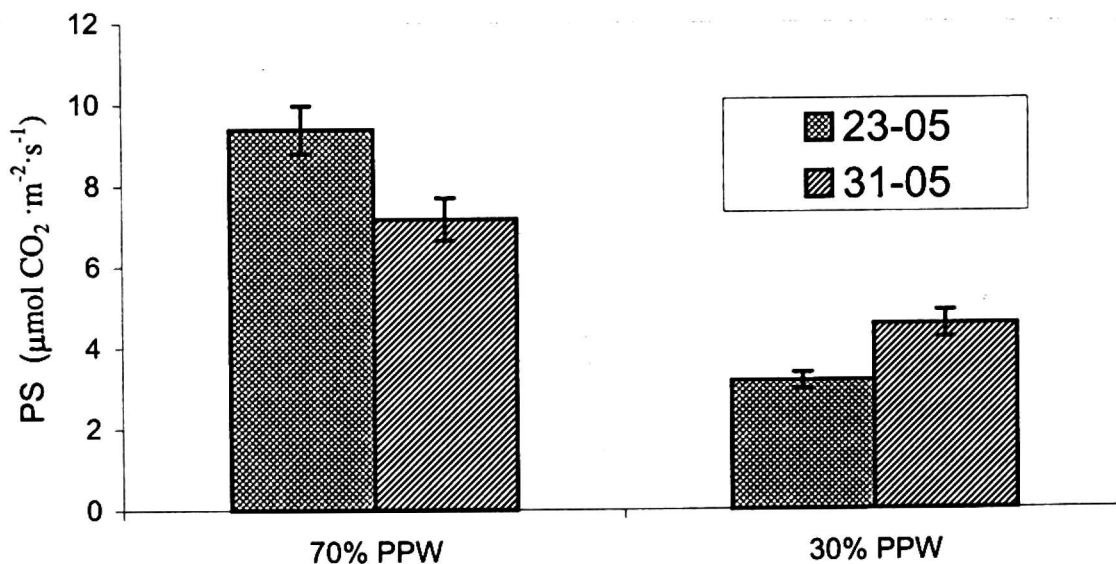
W okresie generatywnego wzrostu grochu, przed tworzeniem pąków i kwitnieniem, zmniejszono dopływ wody do gleby. Ilość jej odpowiadała około 30% PPW. Uzyskane wyniki badań kalorymetrycznych zamieszczono na kolejnym rysunku 2.



Rys. 2. Zmiany szybkości wydzielania metabolicznego ciepła (RHP_{met}) z liści grochu przy zawartości wody w glebie odpowiadającej 30% PPW

Fig. 2. Changes in the rate of metabolic heat production (RHP_{met}) by pea leaf at water content in soil equivalent to 30% water holding capacity (WHC)

Szybkość wydzielania metabolicznego ciepła z liści grochu rosnącego w glebie o mniejszej zawartości wody była obniżona w porównaniu z wartościami wcześniej prezentowanymi na rysunku 1 i dotyczących tych samych okresów wzrostu. Wartość współczynnika kalorespirometrycznego dla grochu rosnącego w stanie deficytu wodnego odpowiadała 0,22–0,24 w okresie między 24 i 31 maja i była wyższa w porównaniu z kolejnymi pomiarami 0,17 i 0,19 w dniu 5 i 14 czerwca.

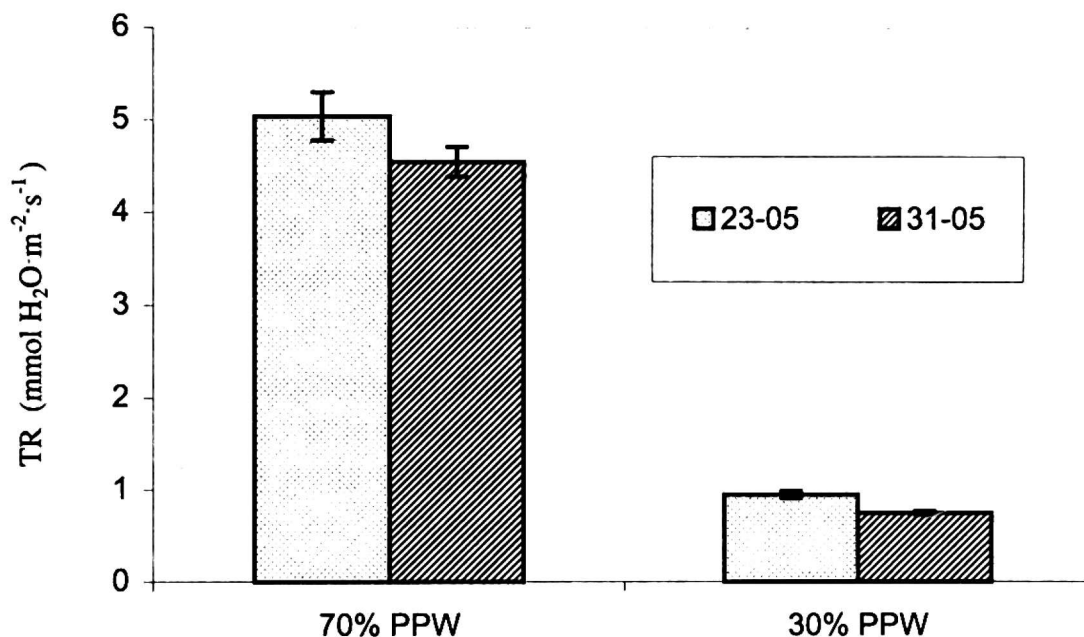


Rys. 3. Zmiany intensywności fotosyntezy (PS) grochu rosnącego w glebie przy zawartości wody odpowiadającej 70 i 30% PPW

Fig. 3. Changes in photosynthesis intensity (PS) of pea growing in soil water content equivalent to 70 and 30% water holding capacity (WHC) of

Pomiary intensywności fotosyntezy grochu (rys. 3) przeprowadzono w fazie czwartego – piątego liścia oraz podczas tworzenia pąków i kwitnienia. Pomiary te wyraźnie potwierdzają niższą intensywność fotosyntezy dla grochu rosnącego w glebie o niższej zawartości wody w glebie (30% PPW) w porównaniu z grochem rosnącym w podłożu zasobnym w wodę tj. przy 70% PPW.

W tym samym czasie co pomiary fotosyntezy wykonano pomiary transpiracji liści grochu (rys. 4).



Rys. 4. Transpiracja (TR) liści grochu przy zawartości wody w glebie odpowiadającej 70 i 30% PPW

Fig. 4. Transpiration (TR) of pea leaves at water content in soil equivalent to 70 and 30% water holding capacity (WHC)

Transpiracja liści była znacznie wyższa w przypadku grochu rosnącego w podłożu zasobnym w wodę – 70% PPW. Podczas badań dodatkowo mierzono temperaturę powietrza w hali vegetacyjnej oraz temperaturę liści. Temperatura powietrza była wyższa w początkowym okresie doświadczenia np. 32°C w dniu 24 maja i około 27°C w dniu 31 maja. Fakt ten sprzyjał wzmożonemu parowaniu wody z powierzchni liści co wymagało poboru energii cieplnej a w konsekwencji obniżało ich temperaturę o około 0,3–0,5°C.

Badania porównawcze przedstawione w pracy prowadzono przy zróżnicowanej temperaturze otoczenia mogącej mieć wpływ na szybkość wzrostu grochu. Aktywność metaboliczna roślin jest funkcją temperatury [CRIDDLE, HANSEN 1999]. Zastosowana w pracy metodyka pomiarów kalorespirometrycznych zapewniła porównanie otrzymanych wyników badań niezależnie od zmian temperatury otoczenia. Prace JONES [1998] i KRAMPITZ i in. [1984] oraz inne opracowania wykazują mniejszą intensywność fotosyntezy i transpiracji w warunkach deficytu wodnego. Wyniki badań własnych potwierdziły ujemny wpływ niedoboru wody w środowisku glebowym na przebieg procesów metabolicznych w liściach grochu wyrażający się w zmianach szybkości wydzielania ciepła. Aktywność metaboliczna badanych liści zależała od okresu wzrostu grochu i była najwyższa w dniu 24 maja. Niedobór wody w glebie indukowany przed fazą kwitnienia spowodował istotne zmniejszenie intensywności fotosyntezy i znaczne obniżenie transpiracji. Stwierdzone zmiany w szybkości wydzielania metabolicznego ciepła z liści grochu jak i współczynnika kalorespirometrycznego sugerują wytworzenie się mechanizmów prze-

ciwdziałających negatywnym skutkiem deficytu wody w glebie a podtrzymujących aktywność metaboliczną. Potwierdzeniem tego faktu są inne badania wpływu deficytu wody na wzrost roślin [BRADFORD, HSIAO 1982; TURNER 1986; MAUREL 1997; STEUDLE 2002]. Zamieszczone w pracy wyniki badań sygnalizują zmiany bioenergetyki procesów metabolicznych podczas wzrostu grochu w warunkach glebowego deficytu wody i wskazują na konieczność prowadzenia dalszych, znacznie pogłębionych badań kalorespirometrycznych i powiązania ich z badaniem fizjologiczno-biochemicznych mechanizmów sterującymi wzrostem roślin.

Wnioski

1. Szybkość wydzielania metabolicznego ciepła była najwyższa w fazie czwartego – piątego liścia dla grochu rosnącego przy optymalnej zawartości wody w glebie.
2. Deficyt wody w glebie indukowany przed tworzeniem pąków i kwitnieniem spowodował zmniejszenie szybkości wydzielania metabolicznego ciepła w porównaniu ze wzrostem grochu przy optymalnej zawartości wody w glebie.
3. Fotosynteza i transpiracja liści grochu były istotnie obniżone w warunkach indukowanego deficytu wody w glebie.

Literatura

- BRADFORD K.J., HSIAO T.C. 1982. *Physiological responses to moderate water stress*, w: *Encyclopedia of plant physiology*. Vol. 12B, New series. Lange O.L., Nobel P.S., Osmond C.B., Ziegler H. (Eds). Springer –Verlag, Germany: 263–324.
- CHAVES M.M. 1991. *Effect of water deficit on carbon assimilation*. J. Exp. Bot. 42: 1–16.
- CRIDDLE R.S., BREINDENBACH R.W., RANK D.R., HOPKIN M.S., HANSEN L.D. 1990. *Simultaneous calorimetric and respirometric measurements on plant tissues*. Thermochemica Acta 172: 213–221.
- CRIDDLE R.S., BREINDENBACH R.W., HANSEN L.D. 1991. *Plant calorimetry: how to quantitatively compare apples and oranges*. Thermochemica Acta 193: 67–90.
- CRIDDLE R.S., HANSEN L.D. 1999. *Calorimetric methods for analysis of plant metabolism*, w: *Handbook of thermal analysis and Calorimetry*. Vol. 4. Organic and Biological Materials, R.B. Kemp (Ed.) Elsevier Science: 711–763.
- DAVIES W.J., TARDIEU F., TREJO C.L. 1994. *How do chemical signals work in plants that grow in drying soil*. Plant Physiol. 104: 309–314.
- GÓRECKI R.J., GRZESIUK S. 1978. *Fizjologiczne podstawy odporności roślin na suszę*. Post. Nauk Roln. 3/78: 15–44.
- HANSEN L.D., SMITH B.N., CRIDDLE R.S. 1998. *Calorimetry of plant metabolism: A means to rapidly increase agricultural biomass production*. Pure & Appl. Chem. 70(3): 687–694.
- HANSEN L.D., TAYLOR D.K., SMITH B.N., CRIDDLE R.S. 1996. *The relation between plant*

- growth and respiration: Application to ecology and crop cultivar selection.* Russian J. Plant Physiol. 43(6): 691–697.
- HARE P.D., CRESS W.A. 1997. *Metabolic implications of stress – induced proline accumulation in plants.* Plant Growth Regulation 21: 79–102.
- HARTUNG W., PEUKE A.D., DAVIES W.J. 1999. *Abscisic acid – a hormonal long distance stress signal in plants under drought and salt stress,* in: *Handbook of plant and crop stress 2nd edn.* Pessarakli M. (Ed.) New York: Marcel Dekker: 731–747.
- JONES H.B. 1998. *Stomatal control of photosynthesis and transpiration.* J. Exp. Bot. 49: 387–398.
- KRAMPITZ J.M., KLUG K., FOCK H.P. 1984. *Rates of photosynthetic CO₂ uptake, photorespiratory CO₂ evolution and dark respiration in water stressed sunflower and bean leaves.* Photosynthetica 18: 322–328.
- LEUNG J., GIRAUDAT J. 1998. *Abscisic acid signal transduction.* Ann. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol. 49: 199–222.
- MAUREL C. 1997. *Aquaporins and water permeability of plant membranes.* Ann. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol. 48: 399–429.
- SMITH B.N., JONES A.R., HANSEN L.D., CRIDDLE R.S. 1999. *Growth, respiration rate, and efficiency responses to temperature,* w: *Handbook of plant and crop stress.* Pessarakli M., Dekker M. (Eds.). Inc. : 417–440.
- STARCK Z. 2002. *Wpływ stresów abiotycznych na plonowanie roślin,* w: *Fizjologia plonowania roślin.* Praca zbiorowa pod red. R.J. Góreckiego i S. Grzesiuka, Wydawn. UWM Olsztyn: 447–486.
- STARCK Z., CHOŁUJ D., NIEMYSKA B. 1995. *Fizjologiczne reakcje roślin na niekorzystne czynniki środowiska.* Wydawn. SGGW Warszawa.
- STEUDLE E. 2002. *Transport of water in plants.* Environ. Control in Biol. 40(1): 29–37.
- STEUDLE E. 2000. *Water uptake by roots: effects of water deficit.* J. Exp Bot. 51: 1531–1542.
- TURNER N.C. 1986. *Adaptation to water deficit: a changing perspective.* Austr. J. Plant Physiol. 13: 175–190.
- WEIDNER S. 1986. *Mechanizm działania kwasu abscysynowego.* Post. Nauk Roln. 5/86: 25–45.

Słowa kluczowe: groch, kalorymetria, gleba, deficyt wody, aktywność metaboliczna, fotosynteza, transpiracja

Streszczenie

Praca zawiera wyniki porównawczych badań kalorymetrycznych, fotosyntezy i transpiracji grochu rosnącego przy optymalnej zawartości wody w glebie oraz w stanie deficytu wody indukowanego przed fazą tworzenia pąków i kwitnieniem. Pomiaru kalorymetryczny wykonano w prototypowym izotermicznym, sześciocelowym kalorymetrze w temperaturze 25°C. Do pomiarów fotosyntezy i transpiracji użyto przenośnego analizatora gazu LI-6400 firmy LI-COR. Deficyt wody

w glebie indukowano obniżając jej zawartość w glebie z poziomu 70% PPW do około 30% PPW. Stwierdzone różnice w szybkości wydzielania metabolicznego ciepła, intensywności fotosyntezy i transpiracji były związane z fazą wzrostu grochu i niższe w stanie deficytu wody w glebie.

CHANGES OF METABOLIC ACTIVITY OF PEA (*Pisum sativum* L.) DURING THE INDUCED WATER DEFICIT IN SOIL

*Jerzy Dziejowski*¹, *Gabriel Fordoński*², *Jacek Olszewski*²

¹ Department of Chemistry, University of Warmia and Mazury, Olsztyn

² Department of Plant Diagnostics and Plant Pathology,
University of Warmia and Mazury, Olsztyn

Key words: pea, calorimetry, soil, water deficit, metabolic activity, photosynthesis, transpiration

Summary

Paper presents the results of comparative calorimetric, photosynthesis and transpiration studies of pea growing at optimum water content in soil and at the state of water deficit in soil induced before buds formation and flowering. Calorespirometric measurements on leaf tissue were performed in isothermal, six channel calorimeter at temperature 25°C. For photosynthesis and transpiration measurements portable gas analyzer LI-6400 of LI-COR production was used. Water deficit was induced by lowering the water content in soil from 70% to about 30% WHC. The differences in metabolic heat production rates and intensity of photosynthesis by pea leaves were connected with the phase of plant development and lower when following the state of water deficit in soil.

Dr hab. Jerzy E. **Dziejowski**, prof. nadzw.

Katedra Chemii

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski

pl. Łódzki 4

10-718 OLSZTYN-KORTOWO

e-mail: dziejo@uwm.edu.pl