

**ФЕНОМЕН ЕЖЕСУТОЧНОГО КРАТКОВРЕМЕННОГО ВЛИЯНИЯ
НИЗКИХ ЗАКАЛИВАЮЩИХ ТЕМПЕРАТУР
НА ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ РАСТЕНИЯ¹**

© 2008 г. Е. Ф. Марковская, М. И. Сысоева, Е. Г. Шерудило

Институт биологии Карельского НЦ РАН
185910 Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11
E-mail: sysoeva@krc.karelia.ru

Поступила в редакцию 16.05.07 г.
Окончательный вариант получен 29.11.07 г.

Изучали феноменологические реакции растений на ежесуточное кратковременное действие и последствие температуры из зоны холодного закалывания в камеральных и полевых экспериментах. Исследования выполнены на растениях огурца (*Cucumis sativus* L.), ячменя (*Hordeum vulgare* L.), бархатцев (*Tagetes* L.) и петунии (*Petunia × hybrida*). Проведенные исследования показали, что реакция всех исследуемых видов растений на различные типы воздействия низкой закалывающей температурой сходна, что позволяет выявить общие закономерности. Установлено, что основными отличиями ответной реакции растений на ежесуточное кратковременное воздействие низкой закалывающей температурой являются: более высокий уровень прироста холодоустойчивости (в два–три раза выше, чем при постоянной низкой закалывающей температуре), достигающий максимальных значений на 5-е сут (при постоянной низкой закалывающей температуре – на 2-е сут) и сохраняющийся в последствии в течение 2 нед (при постоянной низкой закалывающей температуре – 3–4 сут); одновременный с холодоустойчивостью рост теплоустойчивости, превышающий величину таковой при постоянной низкой закалывающей температуре в два раза и сохраняющийся на повышенном уровне длительное время (при постоянной низкой закалывающей температуре рост теплоустойчивости отмечен только в начальный период действия низкой температуры); резкое падение уровня холодоустойчивости в последствии при выдерживании растений в темноте (в последствии постоянной низкой температуры уровень холодоустойчивости снижается медленно); сочетание высокого уровня холодоустойчивости с высокой фотохимической активностью фотосинтетического аппарата (при постоянной низкой температуре отмечается низкий уровень нефотохимического тушения); сохранение способности к быстрому увеличению холодоустойчивости растений в ответ на повторное воздействие ежесуточной кратковременной низкой закалывающей температурой при выращивании растений в условиях открытого грунта (в последствии постоянной низкой температурой этот процесс постепенный).

Выдвигаются гипотезы о механизмах реакции растений на ежесуточное кратковременное низкотемпературное воздействие.

Ключевые слова: *Cucumis sativus* L., *Hordeum vulgare* L., *Tagetes* L., *Petunia × hybrida*, рост, развитие, холодоустойчивость, флуоресценция хлорофилла, ПЦР, кратковременное низкотемпературное воздействие, действие постоянной низкой температуры.

Успешность произрастания растений в природе зависит от климатических условий и, прежде всего, от температуры. За пределами области оптимума как повышенные, так и пониженные температуры приводят к ингибированию различных составляющих процессов роста и развития. Реакция растений на действие низких положительных и отрицательных температур, с экспозицией в минутах и сутках, хорошо изучена (Александров, 1985; Титов, 1989; Guy, 1990; Кузнецов, 1992; Thomashow, 1999). Значительно меньше данных о ре-

акции растений на кратковременные (часовые) ежесуточно повторяющиеся действия низких закалывающих температур, достаточно часто встречающихся в природе (Марковская и др., 2006). Исследования кратковременного действия температур из зоны холодного закалывания (Дроздов и др., 1984) активно проводились в начале 60–70-х гг. прошлого столетия и были связаны в основном с предпосевной обработкой семян переменными температурами (Воронова, 1953; Кушниренко, 1962; Белик, 1963; Генкель, Кушниренко, 1966). Авторы отмечали значительный положительный эффект в последствии обработок семян на рост, устойчивость и продуктивность растений (Генкель и др.,

¹ Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 04-04-48029, 07-04-00063) и РФФИ-Карелия (проекты № 05-04-97515, 08-04-98833).

1955; Будурян, 1962; Кандина, 1962; Белик, 1963; Генкель, Кушниренко, 1966; Николаева и др., 1999). В последние два десятилетия интерес к кратковременному низкотемпературному ежесуточному воздействию в период активной вегетации растений в условиях защищенного грунта был связан с изучением морфогенетического эффекта (Myster, Moe, 1995; Сысоева и др., 2001). Было установлено, что в этих условиях наряду с морфогенетическим эффектом повышается и холодоустойчивость растений (Марковская и др., 2000). В соответствии с прогнозом изменения климата в высоких широтах (Филатов, 2003) нестабильности суточного температурного режима весной, когда проходят ранние этапы развития организмов, уделяется особое внимание.

Цель настоящей работы – описание феноменологических реакций растений на ежесуточное кратковременное действие и последствие температуры из зоны холодного закаливания в камеральных и полевых экспериментах и попытка выявления механизмов, участвующих в ответных реакциях растений на указанные воздействия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследования проводили на растениях огурца (*Cucumis sativus* L., гибриды Алма-Атинский 1, Зозуля), ячменя (*Hordeum vulgare* L., сорт Заозерский 85) и декоративных видах – бархатцах (*Tagetes* L., сорт Golden) и петунии (*Petunia × hybrida*, сорт Red Star).

Семена огурца и ячменя проращивали в чашках Петри в термостате при 28°C в течение 2 сут, высаживали в вазоны с песком (полив питательным раствором Кнопа с добавлением микроэлементов, рН 6.2–6.4) и выращивали в камерах искусственного климата ВКШ-73 при фотопериоде 12 ч, интенсивности света 100 Вт/м², концентрации CO₂ 0.03% и относительной влажности воздуха 60–70%. Температура почвы соответствовала температуре воздуха, спектральный состав света – облучению лампами ДРЛ-400. До начала эксперимента растения огурца выращивали при ранее установленных (Марковская, 1994) оптимальных температурных режимах – по 2 сут при 30 и 23°C до полного раскрытия семядолей, а растения ячменя – 5 сут при 23°C до выхода первого листа.

Рассаду декоративных растений выращивали в теплицах муниципального комбината благоустройства г. Петрозаводска (61°5'с. ш., 34°3'в. д.) при естественной длине дня (посев – в феврале). В конце мая по 100 растений петунии в фазе 13–14 листьев и бархатцев в фазе 4 листьев пересаживали в почвенный субстрат, помещали в камеры искусственного климата и адаптировали в течение недели к постоянным условиям – температуре 23°C и фотопериоду 16 ч.

Далее подготовленные растения в течение 6 сут находились в различных экспериментальных условиях: контроль – растения выдерживали при постоянной оптимальной суточной температуре 23°C; ПНТ (постоянная низкая закалывающая температура) – растения экспонировали при постоянной низкой суточной температуре: 12°C (огурец, петуния, бархатцы) и 10°C (ячмень); ДРОП (от англ. “drop”) – ежесуточно в конце ночного периода снижали температуру на 2 ч с 23 до 12°C (огурец) или до 10°C (ячмень) и на 3 ч с 23 до 12°C (петуния, бархатцы) путем перестановки растений между камерами.

Для изучения последствия температурных обработок декоративные растения высаживали в открытый грунт, где они росли до середины сентября, а растения огурца и ячменя возвращали на две недели в оптимальные для роста и развития камеральные условия (температура 23°C, фотопериод – 12 ч). Кроме того, часть растений огурца каждого варианта в течение 1 нед круглосуточно выдерживали в темноте при оптимальной температуре 23°C.

В ходе опытов измеряли линейные размеры и сухую массу растений. Холодо- и теплоустойчивость (ХУ и ТУ) растений анализировали по методу ЛТ₅₀, определяя температуру гибели 50% палисадных клеток листовых высечек после их 5-минутного промораживания в микрохолодильнике или прогрева в водном термостате соответственно (Дроздов и др., 1976).

Состояние фотосинтетического аппарата оценивали по параметрам флуоресценции листьев: максимальному квантовому выходу фотохимической активности ФС II (F_v/F_m) и коэффициентам фотохимического (qP) и нефотохимического (NPQ) тушения. Перед началом измерений растительный материал адаптировали к темноте в течение 15 мин. Для измерений флуоресценции хлорофилла использовали анализатор выхода фотосинтеза с импульсно-модулированным освещением (MINI-PAM, “Walz”, Германия).

Всего для каждого вида растений было проведено по два независимых опыта в 10-кратной биологической повторности. Данные обрабатывали методами математической статистики ($p < 0.05$) с использованием пакета программ Statgraphics. В таблицах приведены средние значения показателей, в качестве разброса экспериментальных данных указаны ошибки среднего значения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные нами ранее исследования по влиянию ежесуточного (6 сут) ДРОП различной продолжительности в суточном цикле (от 1 до 12 ч) на ХУ, накопление сухой массы и морфогенетические параметры растений огурца показали, что от-

ветная реакция растения зависит от исследуемого показателя и продолжительности воздействия в суточном цикле (Марковская и др., 2000). При 1–2-часовом воздействии наблюдается ингибирование накопления биомассы растений и максимальный прирост ХУ; при 4–6-часовом воздействии происходит стимуляция накопления биомассы с превышением значений контроля, сопровождающаяся некоторым снижением уровня ХУ; при более длительных (до 12 ч) воздействиях отмечено резкое снижение биомассы и падение прироста ХУ. Проведенный анализ динамики накопления биомассы показал, что ДРОП-реакцию растений можно рассматривать как трехфазную стрессовую реакцию растительного организма – фитостресс, феноменологически совпадающий с фазами кривой Селье (1982). *Фаза тревоги* – при продолжительности низкотемпературного действия 1–2 ч отмечалось снижение биомассы, уменьшение линейных размеров растений и максимальные значения ХУ; *фаза адаптации* – при увеличении продолжительности воздействия до 4–6 ч биомасса увеличивалась, линейные размеры уменьшались, и несколько снижалась ХУ; *фаза гибели* – при длительном, до 8–12 ч, снижении температуры уменьшались линейные размеры и накопление биомассы, что сопровождалось падением ХУ растений (Марковская и др., 2000). При сопоставлении данных по действию кратковременного (ДРОП) и постоянного (ПНТ) ежесуточного низкотемпературного воздействия оказалось, что ХУ растений, обработанных ДРОП, в два–три раза выше, чем при действии ПНТ (Sysoeva et al., 2005), что послужило основанием для более подробного исследования выявленного феномена высокой устойчивости.

Прежде всего, это касалось исследования динамики формирования устойчивости в течение нескольких суток действия ПНТ и ДРОП, а также в последствии (рис. 1). При круглосуточном действии низкой температуры у растений огурца на 2-е сут отмечался достоверный прирост ХУ, который, достигнув своего максимального значения (1.0°C) в последующие сутки, сохранялся на этом уровне до конца опыта. При действии ДРОП продолжительностью 2 ч в сутки ХУ также начала увеличиваться на 2-е сут, но максимального и значительно более высокого уровня (3.5°C) прирост ХУ достиг лишь на 5-е сут, сохраняя его в дальнейшем. Следует отметить, что максимальный прирост устойчивости формируется в варианте ДРОП за 12 ч действия низкой температуры (6 сут по 2 ч), а в варианте ПНТ – за 144 ч (6 сут по 24 ч). В последствии динамика ХУ в исследуемых вариантах опыта также сильно различалась (рис. 1). После воздействия ДРОП в условиях оптимальной температуры высокий уровень ХУ растений огурца сохранялся в течение 6 сут, а затем постепенно снижался, достигая контрольного уровня только через 2 нед. В после-

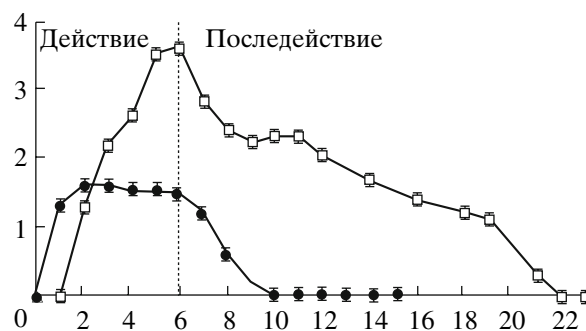


Рис. 1. Динамика холодоустойчивости (ХУ) растений огурца при ежесуточном постоянном (24 ч, —●—) и кратковременном (2 ч, —□—) низкотемпературном (12°C) воздействии в течение 6 сут и его последствии. По оси абсцисс – время, сут; по оси ординат – прирост холодоустойчивости, °C.

действии ПНТ ХУ начинала снижаться на 2-е сут и уже к 6-м сут достигала уровня контроля.

Однако если растения в последствии выдерживали при оптимальном температурном режиме в темноте, то отмечался несколько иной, совершенно неожиданный результат (табл. 1). Так, в последствии ПНТ в условиях темноты динамика ХУ лишь незначительно отличалась от светового варианта на протяжении всего опыта (6 сут), а в последствии ДРОП ХУ сохранялась на высоком уровне только в течение 2 сут темноты, а затем начинала резко падать. У растений этого варианта наблюдали пониженный тургор, некроз листовых пластинок и черешков, а к концу недели – их гибель. Эти данные могут свидетельствовать о разной природе сформированной ХУ в двух вариантах опыта и дают основание предполагать, что световой фактор является определяющим в реакции растений на воздействие ДРОП. По-видимому, вклад фотосинтетической составляющей в формирование ХУ при действии ДРОП играет ведущую роль.

В связи с этим было проведено сравнительное изучение состояния фотосинтетического аппарата растений в действии и последствии ДРОП и ПНТ. Результаты измерений флуоресценции хлорофилла *in vivo* представлены в табл. 2. Установлено, что у растений огурца ежесуточное действие ПНТ приводило к некоторому по сравнению с контролем снижению ФС II (F_v/F_m) и значительно уменьшало величину коэффициента NPQ (табл. 2), что согласуется с литературными данными (Rizza et al., 2001; Rapacz et al., 2004; Zhou et al., 2004). В то же время в варианте ежесуточного воздействия ДРОП исследованные параметры флуоресценции не отличались от контроля (табл. 2). Полученные результаты свидетельствуют об активном функциональном состоянии фотосинтетического аппарата растений варианта ДРОП и его ингибировании при постоянном низкотемпературном воз-

Таблица 1. Изменение холодоустойчивости растений огурца на свету и в темноте в последствии ежесуточного постоянного (ПНТ) и кратковременного (ДРОП) влияния низкой закаливающей температуры, °С

Вариант опыта	Конец действия	Последствие, сут		
		8	10	12
	(6 сут)	свет/темнота	свет/темнота	свет/темнота
ПНТ	1.4	1.3/1.5	0.5/0.8	0/0
ДРОП	3.9	3.5/3.0	2.1/1.3	2.6/гибель 100%

Таблица 2. Параметры флуоресценции хлорофилла растений огурца при ежесуточном постоянном (ПНТ) и кратковременном (ДРОП) действии низкой закаливающей температуры

Вариант опыта	Максимальный квантовый выход фотохимической активности ФС II, F_v/F_m	Коэффициенты тушения	
		фотохимического qP	нефотохимического NPQ
Контроль	0.793 ± 0.02	0.885 ± 0.20	0.932 ± 0.16
ПНТ	0.757 ± 0.01	0.892 ± 0.04	0.397 ± 0.04
ДРОП	0.785 ± 0.01	0.986 ± 0.06	1.018 ± 0.27

действии. Это означает, что при ежесуточном воздействии ДРОП растения характеризуются высоким уровнем фотохимической активности фотосинтетического аппарата в сочетании с высоким уровнем ХУ.

Описанные выше результаты были получены в камеральных опытах. Однако, учитывая широкую распространенность ДРОП в природе, большой интерес представляло исследовать реакции растений на разные типы температурных воздействий в полевых экспериментах. Как показал анализ суточного климата, на широте г. Петрозаводска в весенний и осенний периоды в течение всей вегетации отмечается частое падение температуры в суточном цикле на 2–4 ч в ночные и раннеутренние часы (рис. 2). Мы исследовали декоративные растения (бархатцы и петуния), подвергнутые в камеральных условиях в течение 6 сут ПНТ и ДРОП, а затем высаженные в открытый грунт в естественных условиях. Растения, обработанные низкой температурой перед высадкой в открытый грунт, различались по уровню устойчивости: прирост ХУ растений в варианте ДРОП был в два раза выше по сравнению с растениями варианта ПНТ (рис. 2). Вскоре после высадки, в середине июня, отмечались понижения температуры воздуха ночью, что индуцировало увеличение ХУ только контрольных растений, в то время как в вариантах ДРОП и ПНТ ХУ сохранялась на том же высоком уровне. В июле, когда среднесуточная температура воздуха превышала 16–20°C и практически не наблюдалось кратковременных ее падений, ХУ растений всех вариантов снизи-

лась до исходного уровня контроля. В середине августа было отмечено первое резкое снижение температуры воздуха в ночной период ниже 12°C. Анализ ХУ листьев, проведенный на следующий день, показал мгновенное увеличение (до первоначального весеннего значения) уровня устойчивости у растений, подвергнутых весной воздействию ДРОП, и лишь незначительное возрастание уровня ХУ – у растений варианта ПНТ и контрольных. В течение осени кратковременные падения температуры участились, что привело к возрастанию устойчивости во всех изученных вариантах, а к концу сезона прирост устойчивости у растений всех вариантов оказался одинаково высоким (3°C) (рис. 2). Эти опыты показали, что растения “помнят” не только факт предыдущего температурного воздействия, но и характер его действия.

Одним из критериев неспецифической реакции выступает кросс-адаптация (Hale, 1969; Benzi-
oni et al., 1975; Boushiba et al., 1975; Schmidt et al., 1986; Кузнецов, 1992; Kuznetsov et al., 1993, 1999; Александров, Кислюк, 1994; Hinch, 1994), отличительной особенностью которой является одновременное развитие устойчивости к стресс-факторам разной природы. На растениях ячменя мы установили, что как при постоянном, так и при кратковременном многосуточном низкотемпературном воздействии наряду с повышением ХУ листьев наблюдается увеличение и ТУ (рис. 3). Однако если при ПНТ ТУ, достигнув максимума, уже после 2-х сут начинает снижаться, то в варианте с ДРОП максимальный уровень ТУ листьев

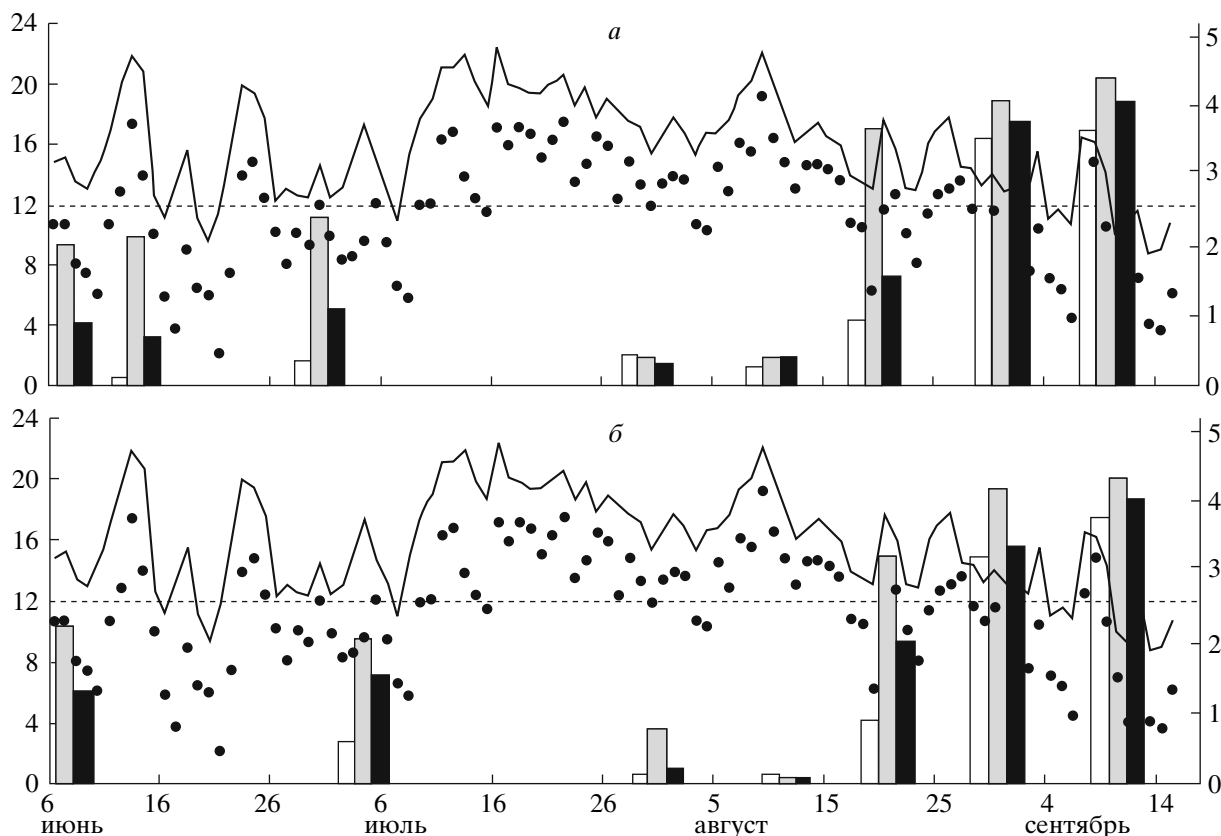


Рис. 2. Динамика среднесуточной температуры воздуха в период активной вегетации растений в Петрозаводске (2005 г.) и прирост холодоустойчивости растений петунии (а) и бархатцев (б) в последствии различных температурных обработок: контроля (□), ежесуточного постоянного (■) и кратковременного (▣) низкотемпературного воздействия. По оси абсцисс – дата; по оси ординат – температура воздуха, °С (слева), прирост холодоустойчивости, °С (справа). (●) – кратковременные (менее 3 ч) снижения температуры, °С.

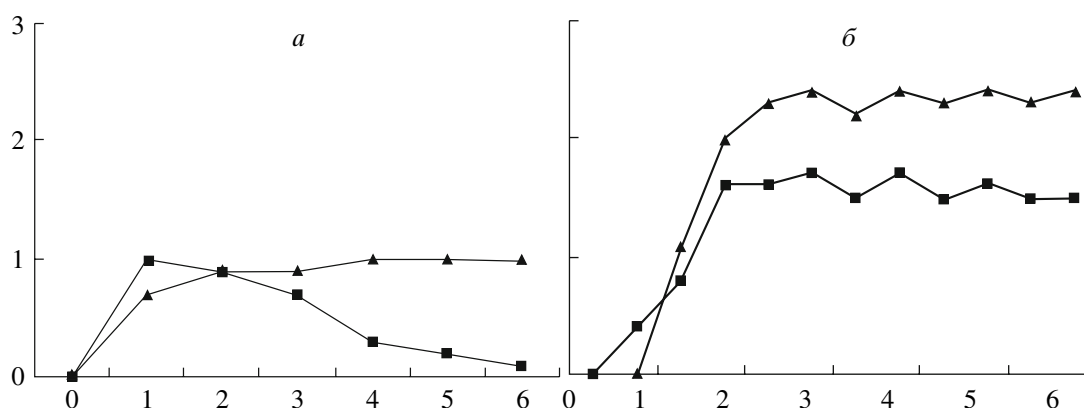


Рис. 3. Динамика холодо- и теплоустойчивости растений ячменя при ежесуточном постоянном (—■) (а) и кратковременном (—▲) (б) действии низкой закалывающей температуры 10°С. По оси абсцисс – время, сут; по оси ординат – прирост устойчивости, °С.

сохранялся длительное время. Различие в ответе растений ячменя на ДРОП и ПНТ обнаруживается и при сравнении величины прироста ТУ, которая при ДРОП была в два раза выше, чем при ПНТ. Результаты этого опыта свидетельствуют

об участии неспецифической составляющей устойчивости в ответных реакциях на оба вида воздействия.

Аналогичные данные были получены и в опытах по кросс-адаптации, проведенных на растении

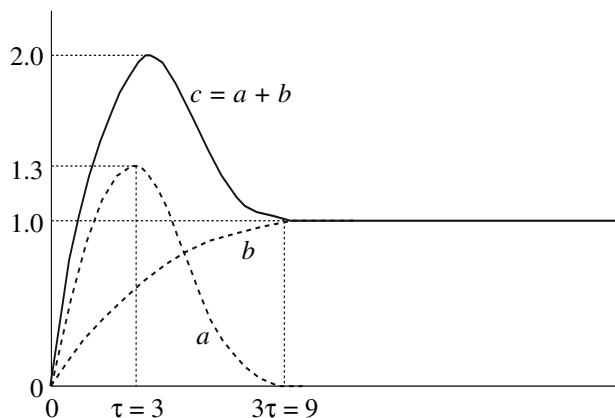


Рис. 4. Периодическая (*a*) и аperiodическая (*b*) составляющие холодоустойчивости.

По оси абсцисс — время, ч; по оси ординат — прирост холодоустойчивости, °C.

c — результирующая функция устойчивости, τ — постоянная времени адаптации, ч.

ях картофеля. Растения картофеля, обработанные в течение 6 сут низкой закалывающей температурой (варианты ДРОП и ПНТ), оказались устойчивее к заражению картофельной цистообразующей нематодой по сравнению с контрольными (Matveeva et al., 2005). При этом уровень устойчивости растений картофеля к нематоды в последствии ДРОП оказался в два раза выше по сравнению с вариантом ПНТ, что также свидетельствует в пользу большого вклада неспецифической составляющей в ответной реакции растений на ДРОП.

Известно, что ХУ растений находится под контролем генетического аппарата и ее повышение в ходе длительного низкотемпературного закалывания связано с изменением экспрессии генов и индукцией синтеза стрессовых белков (Nover et al., 1989; Guo, 1990; Tomashov, 1998; Колесниченко, Войников, 2003). Выявленные нами значительные (в два–три раза) различия в величинах прироста ХУ, полученные при ДРОП и ПНТ, дают основание предполагать, что в этих реакциях участвуют различные механизмы. Анализ пула мРНК, об изменении которого судили по сравнению ПЦР-фрагментов кДНК в условиях ПНТ и ДРОП (метод дифференциального дисплея), показал, что число амплифицированных фрагментов и новых транскриптов близко в обоих вариантах низкотемпературного воздействия и динамика их изменения соответствует росту ХУ (Марковская и др., 2007). Так, наибольшее число новых транскриптов приходится на 2-е сут — период, когда ХУ в обоих вариантах низкотемпературного воздействия все еще возрастает, не достигнув своего максимума. Начиная с 3-х сут действия ПНТ и ДРОП число индуцированных фрагментов кДНК

резко снижается, оставаясь на этом уровне до конца опыта. ХУ проростков огурца в варианте ПНТ к этому моменту достигает максимального уровня, в то время как в варианте ДРОП — продолжает возрастать (Марковская и др., 2007). Сделан вывод о том, что максимум прироста ХУ в варианте с воздействием ДРОП на растения огурца обеспечивается иным, не связанным с изменением экспрессии генов на уровне транскрипции механизмом, например с синтезом фотоассимилятов.

Результаты исследования феноменологических эффектов проявления ХУ растений в ответ на разные способы низкотемпературного воздействия дали основание для предположения о существовании двух составляющих исследуемой устойчивости (неспецифической и специфической) и их разной представленности в суточном цикле в зависимости от длительности действия низкой закалывающей температуры. Для проверки высказанной гипотезы было применено математическое моделирование (Безденежных и др., 2005). Полученные результаты описаны в виде интегральной кривой устойчивости, включающей две составляющие (рис. 4); первая (неспецифическая, периодическая) описывается кривой с максимумом, вторая (специфическая, аperiodическая) — кривой с насыщением. Анализ кривых показал, что реакция растений на ДРОП включает обе составляющие, однако вклад “периодической” составляющей ХУ, особенно при максимуме ее проявления (2 ч), значительно больше, чем второй, “аperiodической”. С увеличением продолжительности действия низкой температуры значимость “периодической” составляющей падает, а “аperiodической”, наоборот, возрастает, достигая максимальных значений при 12-часовом и более длительных воздействиях. На основании анализа уравнений для огурца, гороха и пшеницы был рассчитан ряд параметров воздействия ДРОП, включая оптимальную продолжительность при разной длительности фотопериода (Безденежных и др., 2005), и показано, что они зависят от вида растения и его фотопериодической принадлежности (табл. 3).

Сочетание высоких значений устойчивости и высокой активности фотосинтетического аппарата (на уровне фотохимической активности) отмечается достаточно редко, чаще эти два процесса идут в противоположных направлениях (Жученко, 1988). Подобное сочетание, выявленное при воздействии ДРОП, имеет в природе большое значение при адаптации растений в условиях нестабильного климата в течение вегетации в различных климатических зонах (Мищенко, 1984).

Быстрое увеличение ХУ осенью в открытом грунте у декоративных растений варианта ДРОП в ответ на резкое снижение температуры в суточ-

ном цикле дает основание предположить наличие триггерного механизма запуска ответных реакций, первоначальная активация которых поддерживается в действующем состоянии в течение всей вегетации, обеспечивая систему быстрых защитных реакций растительного организма неспецифического характера. Этот механизм был использован ранее Войниковым (Колесниченко, Войников, 2003) для объяснения реакции растений пшеницы на сходное с нашим кратковременное многосуточное воздействие температур более низких значений. Судя по результатам опытов с кросс-адаптацией, большая роль в формировании ХУ при воздействии ДРОП принадлежит неспецифической составляющей устойчивости.

Особый интерес представляют данные о гибели растений варианта ДРОП при разакаливании в условиях темноты. Какова может быть природа устойчивости, которая, с одной стороны, обеспечивает устойчивость растений при резких понижениях температуры в течение активной вегетации, а с другой стороны, резко падает при выдерживании растений в темноте? С учетом полученных данных высказано предположение об участии продуктов фотосинтеза в процессе формирования ХУ при реакции ДРОП (Марковская и др., 2007). Имеются многочисленные свидетельства о криопротекторной роли углеводов при формировании холодо- и морозоустойчивости растений в ответ на длительное действие низкой температуры (Tognetti et al., 1990; Koster, Lynch, 1992; Wanner, Junttila, 1999; Strand et al., 2003). Канадские исследователи (Gray, Heath, 2005) показали, что при переносе растений *Arabidopsis* с оптимальной (23°C) на низкую положительную температуру (4°C) происходит глобальное перепрограммирование метаболических путей, связанных с фотосинтетическим углеродным метаболизмом. Уже в 1-е сут авторы отметили резкое (в 5–10 раз) увеличение разных пулов гексоз (гексозофосфаты, гексозы и дигексозы), что согласуется с нашей гипотезой об участии углеводов в формировании высокого уровня ХУ в условиях перепада температур – воздействии ДРОП. Авторы, сравнивая метаболизм растений *Arabidopsis*, выращенных при низкой температуре 4°C, с растениями, перенесенными с оптимальной температуры 23°C на низкую 4°C, пришли к выводу о принципиально разных механизмах реакции растений на эти два типа воздействия. Согласно их высказыванию, при внезапном действии низкой температуры на *Arabidopsis* (вариант 23°C → 4°C) изменения метаболизма, определяемые новыми условиями среды, позволяют растению достичь в большей степени холодоакклиматизированного состояния и лишь в некоторой степени – морозоустойчивости. В то же время растения, выращенные в условиях низкой температуры, не только поддерживают состояние холодовой акклимации, но и при участии систем эндогенной регуляции достигают максимальной морозоустой-

Таблица 3. Рассчитанные по модели оптимальная продолжительность снижения температуры в суточном цикле ($T_{\text{опт}}$) и максимальные величины прироста холодоустойчивости при постоянном (ХУ_{ПНТ}) и кратковременном (ХУ_{ДРОП}) действии низкой закалывающей температуры в условиях разных фотопериодов

Вид	Фотопериод, (день/ночь), ч	$T_{\text{опт}}$, ч	ХУ, °С	
			ДРОП	ПНТ
Огурец	10/14	2.7	1.7	1.0
	16/8	6.5	3.3	0.5
Горох	10/14	4.9	2.9	0.4
	16/8	4.0	4.0	0.6
Пшеница	10/14	3.1	3.1	0.9
	16/8	2.6	2.3	0.9

чивости. Эти данные подтверждают нашу гипотезу о различных механизмах формирования ХУ при воздействиях ПНТ и ДРОП (Markovskaya et al., 2003). В результате воздействия ДРОП значительно больший, чем при ПНТ, прирост ХУ, вероятно, связан с формированием устойчивости к низкой положительной температуре – ХУ. Эта устойчивость формируется, по-видимому, за счет метаболитов и энергетики фотосинтетических реакций и играет большую роль при адаптации растений к условиям нестабильного суточного температурного режима в течение активной вегетации, являясь составляющей нормального онтогенеза растения.

Как утверждает Александров (1985), при действии высоких температур в пределах толерантной зоны (шире, чем зона оптимума) адаптивные процессы могут решать биологическую задачу, связанную с обеспечением нормального полноценного существования организма. Этот вид адаптации автор называет температурной настройкой. Переживание шока и способность перманентно жить при повышенной температуре должны быть обусловлены разными генетическими механизмами. Однако как механизмы настройки в пределах толерантной зоны, так и механизмы адаптации при интенсивных нагревах должны повышать термостабильность белков и интенсифицировать репарационные способности клетки (Александров, Кислюк, 1994). Выявленная нами реакция растений на воздействие ДРОП по физиологическим аспектам проявления (сочетание высокой устойчивости с высоким уровнем жизнедеятельности) решает близкие с феноменом температурной настройки задачи, которые обеспечивают полноценную жизнь растений в нестабильном климате.

В геоистории Земли был период, когда существовал парниковый эффект и на всей поверхности Земли сохранялась относительно постоянная температура: +10...+15°C при умеренной освеще-

ценности (Тимофеев, 2005). Появившиеся позже значительные перепады температур потребовали от организмов новой стратегии существования, направленной не на переживание неблагоприятных периодов, а на поддержание активного функционального состояния в новых условиях жизни. Именно с этим периодом в эволюции климата Голленкин (1959) связывает появление покрытосеменных растений, как “победителей в борьбе за существование”. Он считал, что новая таксономическая группа активно использовала гораздо более высокий уровень освещенности, что и обеспечило ей преимущества в выживании. Кроме того, в этот период был существенный перепад суточных температур и адаптация происходила при сочетании новых условий – высокой освещенности и суточном температурном градиенте, роль которого, возможно, даже более существенна. По-видимому, выявленный нами феномен – быстрое индуцированное и значительное повышение устойчивости в ответ на суточный температурный градиент – можно рассматривать как реакцию растений, сформировавшуюся в этот критический период эволюции для поддержания активной жизнедеятельности организмов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Александров В.Я. Реактивность клеток и белки. Л.: Наука, 1985. 318 с.
- Александров В.Я., Кислюк И.М. Реакция клеток на тепловой шок: физиологический аспект // Цитология. 1994. Т. 36. № 1. С. 5–45.
- Безднежных В.А., Марковская Е.Ф., Сысоева М.И., Шерудило Е.Г. Формализация реакции растений на низкотемпературные воздействия // Сб. тр. конф. “Математика. Компьютер. Образование”. Вып. 12. М.: РХД, 2005. С. 1047–1054.
- Белик В.Ф. Влияние закалки семян переменными температурами на физиологические особенности и холодостойкость огурцов // Физиология растений. 1963. Т. 10. № 3. С. 351–357.
- Будурян Н.Н. Влияние предпосевного охлаждения семян на физиологические и биохимические процессы дыни вида *Melo zard* // Вопросы физиологии и биохимии культурных растений. Вып. 1. Кишинев: Штиинца, 1962. С. 52–70.
- Воронова А.Е. Закалка семян и рассады теплолюбивых овощебахчевых культур. М: Изд-во МСХ СССР, 1953. 20 с.
- Генкель П.А., Кушниренко С.В. Холодостойкость растений и термические способы ее повышения. М.: Наука, 1966. 223 с.
- Генкель П.А., Сарычева А.П., Сытникова О.А. Влияние обработки семян переменной температурой на развитие и созревание кукурузы // Физиология растений. 1955. Т. 2. № 5. С. 447–453.
- Голленкин М.И. Победители в борьбе за существование. М.: Учпедгиз, 1959. 132 с.
- Дроздов С.Н., Курец В.К., Будыкина Н.П., Балагурова Н.И. Определение устойчивости растений к заморозкам // Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды. Л.: Колос, 1976. С. 222–228.
- Дроздов С.Н., Курец В.К., Титов А.Ф. Терморезистентность активно вегетирующих растений. Л.: Наука, 1984. 168 с.
- Жученко А.А. Адаптивный потенциал культурных растений (Эколого-генетические основы). Кишинев: Штиинца, 1988. 768 с.
- Кандина Г.В. Вопросы предпосевного охлаждения прорастающих семян огурцов на физиолого-биохимические процессы // Вопросы физиологии и биохимии культурных растений. Вып. 1. Кишинев: Штиинца, 1962. С. 71–79.
- Колесниченко А.В., Войников В.К. Белки низкотемпературного стресса растений. Иркутск: Арт-Пресс, 2003. 196 с.
- Кузнецов В.В. Индуцибельные системы и их роль при адаптации растений к стрессовым факторам: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Кишинев: ИФР АН Республики Молдовы, 1992. 74 с.
- Кушниренко С.В. Последствие прерывистого охлаждения семян (закаливание к холоду) на некоторые физиологические особенности растений: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: ИФР им. К.А.Тимирязева РАН, 1962. 20 с.
- Марковская Е.Ф. Адаптация *Cucumis sativus* L. к температурному фактору в онтогенезе // Физиология растений. 1994. Т. 41. № 4. С. 589–594.
- Марковская Е.Ф., Сысоева М.И., Харьковина Т.Г., Шерудило Е.Г. Влияние кратковременного снижения ночной температуры на рост и холодостойкость растений огурца // Там же. 2000. Т. 47. № 4. С. 511–515.
- Марковская Е.Ф., Сысоева М.И., Шерудило Е.Г. Растения в нестабильном суточном климате // Матер. Междунар. конф. “Северная Европа в XXI веке: природа, культура, экономика”. Петрозаводск: Изд-во КарНЦ РАН, 2006. С. 142–145.
- Марковская Е.Ф., Сысоева М.И., Шерудило Е.Г., Топчиева Л.В. Дифференциальная экспрессия генов в растениях огурца в ответ на многократные кратковременные низкотемпературные воздействия // Физиология растений. 2007. Т. 54. № 6. С. 765–767.
- Мищенко З.А. Биоклимат дня и ночи. Л.: Гидрометеиздат, 1984. 280 с.
- Николаева М.Г., Лянгузова И.В., Поздова Л.М. Биология семян. СПб.: БИН РАН, 1999. 232 с.
- Селье Г. Стресс без дистресса. М.: Прогресс, 1982. 128 с.
- Сысоева М.И., Марковская Е.Ф., Некрасова Т.Г. Современное состояние проблемы воздействия кратковременного снижения температуры на рост растений // Успехи современ. биологии. 2001. Т. 121. № 2. С. 172–179.
- Тимофеев Н.Н. Гипобиоз и криобиоз. Прошлое, настоящее, будущее. М.: Информ-Знания. 2005. 256 с.
- Титов А.Ф. Устойчивость активно вегетирующих растений к низким и высоким температурам: закономер-

- ности варьирования и механизмы: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.: ИФР им. К.А.Тимирязева РАН, 1989. 42 с.
- Филатов Н.Н., Назарова Л.Е., Сало Ю.А., Семенов А.В. Динамика и прогноз изменения климата Восточной Финноскандии // Гидроэкологические проблемы Карелии и использования водных ресурсов. Петрозаводск: Изд-во КарНЦ РАН, 2003. С. 33–39.
- Benzioni A., Itai C. Precondition of tobacco and bean leaves to heat shock by high temperature or NaCl // *Physiol. Plant.* 1975. V. 35. P. 80–84.
- Boussiba S., Rikin A., Richmond A.E. The role of abscisic acid in cross-adaptation of tobacco plant // *Plant Physiol.* 1975. V. 56. P. 337–339.
- Gray G.R., Heath D. A global reorganization of the metabolome in *Arabidopsis* during cold acclimation is revealed by metabolic fingerprinting // *Physiol. Plant.* 2005. V. 124. P. 236–248.
- Guy C.L. Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism // *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 1990. V. 41. P. 187–223.
- Hale H.B. Cross-adaptation // *Environ. Res.* 1969. V. 2. P. 423–434.
- Hincha D.K. Rapid induction of frost hardiness in spinach seedlings under salt stress // *Planta.* 1994. V. 194. P. 274–278.
- Koster K.L., Lynch D.V. Solute accumulation and compartmentation during the cold acclimation of *Puma rye* // *Plant Physiol.* 1992. V. 98. P. 108–113.
- Kuznetsov V.I., Rakitin V.Yu., Borisova N.N., Rotschupkin B.V. Why does heat shock increase salt resistance in cotton plants? // *Plant Physiol. Biochem.* 1993. V. 31. № 2. P. 181–188.
- Kuznetsov V.I., Rakitin V.Yu., Zholklevich V.N. Effects of preliminary heat-shock treatment on acclimation of osmolytes and drought resistance in cotton plants during water deficiency // *Physiol. Plant.* 1999. V. 107. P. 399–406.
- Markovskaya E.F., Sherudilo E.G., Sysoeva M.I. Influence of long-term and short-term temperature drops on acclimation and de-acclimation in cucumber cold resistance // *Acta Hort.* 2003. V. 618. P. 233–236.
- Matveeva E.M., Sysoeva M.I., Sherudilo E.G., Markovskaya E.F. Host-parasite relationships between potato plants and potato cyst-forming nematode *Globodera rostochiensis* under short-term impact of low hardening temperatures // *Rus. J. Nematol.* 2005. V. 13. № 2. P. 154.
- Myster J., Moe R. Effect of diurnal temperature alternations on plant morphology in some greenhouse crops – a mini review // *Sci. Hortic.* 1995. V. 62. P. 205–215.
- Nover L., Neumann D., Scharf K.-D. Heat shock and other stress response systems of plants. Berlin.: Springer, 1989. 155 p.
- Rapacz M., Gasior D., Zwierzykowski Z. et al. Changes in cold tolerance and the mechanisms of acclimation of photosystem II to cold hardening generated by anther culture of *Festuca pratensis* × *Lolium multifolium* cultivars // *New Phytologist.* 2004. V. 162. P. 105–114.
- Rizza F., Pagani D., Stanca A.M., Cattivelli L. Use of chlorophyll fluorescence to evaluate the cold acclimation and freezing tolerance of winter and spring oats // *Plant Breeding.* 2001. V. 120. P. 389–396.
- Schmidt J.E., Schmitt J.M., Kaiser W.M., Hincha D.K. Salt treatment induces frost hardening in leaves and isolated thylakoids from spinach // *Planta.* 1986. V. 168. P. 50–55.
- Strand A., Foyer C.H., Gustafsson P. et al. Altering flux through the sucrose biosynthesis pathway in transgenic *Arabidopsis thaliana* modifies photosynthetic acclimation at low temperatures and the development of freezing tolerance // *Plant Cell Environ.* 2003. V. 26. P. 523–535.
- Sysoeva M.I., Sherudilo E.G., Markovskaya E.F. et al. Temperature drop as a tool for cold tolerance increment in plants // *Plant Growth Regulat.* 2005. V. 46. P. 189–191.
- Thomashow M.F. Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance // *Plant Physiol.* 1998. V. 118. P. 1–7.
- Thomashow M.F. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms // *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 1999. V. 50. P. 571–599.
- Tognetti J.A., Salerno G.L., Crespi M.D., Pontis H.G. Sucrose and fructan metabolism of different wheat cultivars at chilling temperatures // *Physiol. Plant.* 1990. V. 78. P. 554–559.
- Wanner L.A., Junttila O. Cold-induced freezing tolerance in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 1999. V. 120. P. 391–399.
- Zhou Y., Huang L., Du Y., Yu J. Greenhouse and field cucumber ecotypes use different mechanisms to protect dark chilling // *Functional Plant Biol.* 2004. V. 31. P. 1215–1223.

The Effect of Daily Exposure to Low Hardening Temperature on Plant Vital Activity

E. F. Markovskaya, M. I. Sysoeva, and E. G. Sherudilo

*Institute of Biology, Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences,
ul. Pushkinskaya 11, Petrozavodsk, 185910 Russia*

e-mail: sysoeva@krc.karelia.ru

Abstract—Phenomenological responses of plants to daily short-term exposure to low hardening temperature was studied under chamber and field conditions. Experiments were carried out on cucumber (*Cucumis sativus* L.), barley (*Hordeum vulgare* L.), marigolds (*Tagetes* L.), and petunia (*Petunia × hybrida*) plants. The obtained data demonstrated a similar pattern of response in all studied plant species to different variants of exposure to low hardening temperature. The main features of plant response to daily short-term exposure to low hardening temperature include: a higher rate of increase in cold tolerance (cf. two- or threefold increase relative to constant low hardening temperature) that peaked on day 5 (cf. day 2 at constant low hardening temperature) and was

maintained for 2 weeks (cf. 3–4 days at constant low hardening temperature); a simultaneous increase in heat tolerance (cf. twofold relative to constant low hardening temperature) maintained over a long period (cf. only in the beginning of the exposure to constant low hardening temperature); a sharp drop in the subsequent cold tolerance after plant incubation in the dark (cf. a very low decrease in cold tolerance following the exposure to constant low hardening temperature); a combination of high cold tolerance and high photochemical activity of the photosynthetic apparatus (cf. a low non-photochemical quenching at constant low hardening temperature); and the capacity to rapidly increase cold tolerance in response to repeated short-term exposures to low hardening temperature in plants grown outdoors (cf. a gradual increase after repeated exposure to constant low hardening temperature). Possible methods underlying the plant response to daily short-term exposure to low temperature are proposed.

Key words: *Cucumis sativus*, *Hordeum vulgare*, *Tagetes*, *Petunia × hybrida*, growth, development, cold tolerance, chlorophyll fluorescence, PCR, short-term exposure to low temperature, constant exposure to low temperature.