

УДК 581.131:632.954

АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ ТА ФОТОСИНТЕТИЧНОЇ АСИМІЛЯЦІЇ CO₂ ЛИСТКІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ В УМОВАХ ҐРУНТОВОЇ ПОСУХИ

О.Г. СОКОЛОВСЬКА-СЕРГІЄНКО, Д.А. КІРІЗІЙ, Г.І. ПОЛЩУК

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17
e-mail: monitor@ifrg.kiev.ua*

У вегетаційному досліді вивчали вплив ґрунтової посухи в період колосіння—цвітіння на активність антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази та аскорбатпероксидази хлоропластів і фотосинтетичну асиміляцію CO₂ прапорцевих листків рослин озимої пшениці двох сортів, що різнились за продуктивністю. Показано, що для високопродуктивного сорту Фаворитка як за оптимального вологозабезпечення, так і за умов посухи характерні більша інтенсивність CO₂-газообміну та вища продихова провідність, ніж для рослин менш продуктивного сорту Миронівська 808. Отримані дані свідчать, що більша стійкість фотосинтетичного апарату до водного дефіциту в сорту Фаворитка порівняно з сортом Миронівська 808 пов'язана з вищими активністю антиоксидантних ферментів хлоропластів та інтенсивністю фотодихання, що зумовило менші втрати зернової продуктивності першого сорту під впливом посухи.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., фотосинтез, фотодихання, супероксиддисмутаза, аскорбатпероксидаза, посуха.

Посуха є основним лімітуючим чинником продуктивності сільськогосподарських культур у багатьох регіонах земної кулі. Втрати врожаю пов'язані зі зниженням функціональної активності фотосинтетичного апарату внаслідок закриття продихів і зменшення провідності листків для CO₂ [1, 2]. У процесі фотосинтезу за дії негативних чинників, коли інтенсивність асиміляції CO₂ пригнічена, виникає ризик окиснювального ушкодження фотосинтетичних мембран активними формами кисню (АФК), які утворюються через накопичення надлишку електронів у електронтранспортному ланцюзі хлоропластів і відновлення ними кисню [6, 11, 14]. Однією з найважливіших систем захисту фотосинтетичного апарату від окиснювального стресу, спричиненого АФК, є антиоксидантна система хлоропластів [5, 7, 18]. У зв'язку з цим дослідження змін активності ключових антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази (СОД) та аскорбатпероксидази (АПО) хлоропластів під впливом посухи є актуальним.

Іншим захисним механізмом, спрямованим на запобігання надвідновленню електронтранспортного ланцюга в умовах пригнічення фіксації CO₂, є фотодихання, активування якого сприяє захисту фотосинтетичного апарату від фотоінгібування [4, 20].

Метою нашої роботи було дослідження динаміки активності СОД, АПО хлоропластів та CO₂-газообміну прапорцевих листків сортів озимої пшениці різної продуктивності в умовах ґрунтової посухи.

Методика

Об'єктами досліджень слугували сорти озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) різної продуктивності: високопродуктивний сорт Фаворитка та менш продуктивний — Миронівська 808. Рослини після перезимівлі у польових умовах навесні пересадили в посудини Вагнера, які вмішували 10 кг ґрунту, удобреного NPK (по 2 г діючої речовини на посудину). Вологість ґрунту підтримували на рівні 60 % повної вологості. У фазу колосіння—початок цвітіння припинили полив рослин у посудинах дослідного варіанта. Через 2 доби вологість ґрунту в посудинах знизилась до 30 %, на цьому рівні її підтримували дозованим поливом ще 7 діб. На 10-ту добу після початку експерименту полив дослідних рослин відновили до рівня контрольних (60 % ПВ). Протягом періоду посухи, на наступний день і через тиждень після відновлення поливу визначали параметри водного режиму, CO_2 -газообміну та активність супероксиддисмутази й аскорбатпероксидази прапорцевих листків.

Водний дефіцит визначали за стандартною методикою [9]. Інтенсивність фотосинтезу і фотодихання невідокремлених від рослин прапорцевих листків вимірювали за допомогою інфрачервоного газоаналізатора ГІАМ-5М, транспірації — термоелектричним мікропсихрометром за температури 25 °С та інтенсивності ФАР 400 Вт/м². Джерелом світла була лампа розжарювання типу КГ-2000 з водяним фільтром. Показники газообміну та листову провідність для CO_2 розраховували згідно зі стандартною методикою [8]. Інтенсивність фотодихання оцінювали за максимумом виділення CO_2 в перші 60 с після затемнення листків. Повторність визначення вмісту води і водного дефіциту десятиразова, параметрів газообміну — чотириразова. Дані оброблені статистично.

Активність ферментів визначали у хлоропластах. Хлоропласти виділяли механічним способом за температури 0—4 °С [5].

Активність СОД вимірювали за допомогою нітротетразолієвого блакитного за довжини хвилі 560 нм [15], активність АПО — в ультрафіолетовій частині спектра за 290 нм методом Чена й Асади [12]. Вміст хлорофілу в суспензії хлоропластів визначали методом Арнона [11].

Результати оброблені статистично. На рисунках і в таблиці наведено середні значення та їхні стандартні відхилення.

Результати та обговорення

Ґрунтова посуха призводила до поступового збільшення водного дефіциту листків: на 4-ту добу посухи водний дефіцит зріс у 2 рази у сорту Миронівська 808 та в 1,5 рази у сорту Фаворитка порівняно з контрольними варіантами (рис. 1). На 9-ту добу після припинення поливу водний дефіцит зріс у 4,3 рази у сорту Миронівська 808 й у 3 рази — у сорту Фаворитка за відповідного зниження вмісту води на 17 і 8 %. Після відновлення поливу водний дефіцит у листках дослідних рослин зменшився і через тиждень повернувся до контрольних значень.

Інтенсивність фотосинтезу прапорцевих листків (рис. 2, а) у рослин сорту Фаворитка протягом досліджуваного періоду в оптимальних умовах вологозабезпечення була вищою в середньому на 36 % порівняно із сортом Миронівська 808. В умовах наростання ґрунтової посухи інтенсивність асиміляції CO_2 знизилась в обох сортів, але ці зміни були сильніше виражені у сорту Миронівська 808. Інтенсивність видимого фото-

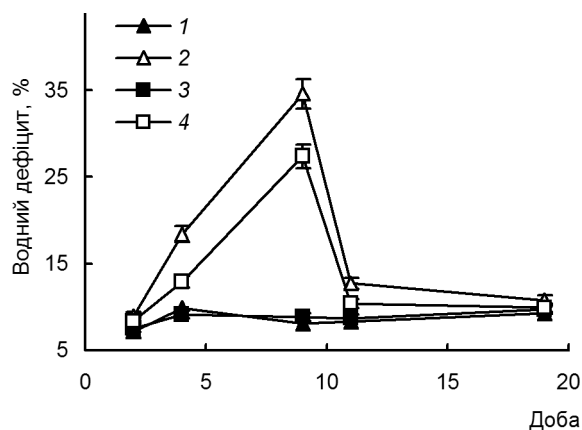


Рис. 1. Вплив ґрунтової посухи на водний дефіцит прапорцевих листків озимої пшениці. Тут і на рис. 2:

1 — Миронівська 808, контроль; 2 — Миронівська 808, дослід; 3 — Фаворитка, контроль; 4 — Фаворитка, дослід

синтезу на 7-му добу ґрунтової посухи у сорту Фаворитка зменшилась на 67, у сорту Миронівська 808 — на 87 % порівняно з контролем. Жорстка посуха на 9-ту добу майже повністю інгібувала асиміляцію CO_2 у рослин сорту Миронівська 808, тоді як у сорту Фаворитка ще спостерігалось деяке поглинання CO_2 . Відновлення інтенсивності фотосинтезу після поновлення поливу в сорту Фаворитка було швидшим і повнішим, ніж у сорту Миронівська 808.

В оптимальних умовах вологозабезпечення рослини сорту Фаворитка характеризувалися вищою листковою провідністю, ніж сорту Миронівська 808 (див. рис. 2, б). За умов посухи одним із лімітуючих чинників фотосинтезу є закриття продихів, що призводить до зменшення листкової провідності. Ґрунтова посуха спричинювала зниження продихової провідності прапорцевих листків в обох сортів, дещо сильніше у сорту Миронівська 808. Після поновлення поливу в дослідних рослин сорту Фаворитка відновлення листкової провідності було швидшим і повнішим, а в сорту Миронівська 808 через тиждень вона відновилась лише до 75 % контрольної.

Інтенсивність фотодихання листків дослідних рослин на початку ґрунтової посухи мала тенденцію до збільшення в обох сортів (див. рис. 2, в). На 7-му добу після припинення поливу в дослідних рослин сорту Миронівська 808 інтенсивність фотодихання знизилась на 20 % відносно контрольного варіанта, у сорту Фаворитка вона продовжувала зростати. Жорстка посуха (9-та доба) пригнічувала фотодихання в обох сортів: у Миронівської 808 — на 80, у Фаворитки — на 56 % порівняно з контрольними варіантами. Після відновлення поливу інтенсивність фотодихання листків дослідних рослин обох сортів досягла контрольних показників.

Причиною зниження продихової провідності (а отже, й асиміляції CO_2) на початку посухи є функціонування індукованої посухою сигнальної системи, що запускається в коренях за підсихання ґрунту, а сигнал хімічної природи, досягнувши листка із транспіраційним потоком, спричинює закриття продихів [19]. Основним переносником такого сигналу вважають абсцизову кислоту (АБК), яка у великих кількостях синтезується в коренях рослин у разі зниження вологозабезпечення і надходить по ксилемі до листків.

Слід зазначити, що в наших дослідях за умов жорсткого водного дефіциту рівень фотодихання листків пшениці був майже в 2 рази вищим за видимий фотосинтез. При цьому в рослин сорту Фаворитка інтенсивність фотодихання втричі перевищувала цей показник у сорту Миронівська 808. Результати багатьох досліджень [3, 16, 17] доводять важливість

захисної функції гліколатного метаболізму в умовах стресу. Збільшення інтенсивності фотодихання в умовах наростання посухи сприяє утилізації надлишку відновлювальних еквівалентів у хлоропластах і тим самим підтримує функціональну активність фотосинтетичного апарату. Отримані нами результати цілком узгоджуються з літературними даними. Так, у рослин сорту Фаворитка вища інтенсивність фотодихання супроводжувалася вищою інтенсивністю фотосинтезу за умов посухи та швидшим його відновленням за поновлення поливу, ніж у сорту Миронівська 808.

Відомо, що за умов жорсткої посухи, коли листкова провідність знижується до мінімально можливих значень, у рослині розвивається окиснювальний стрес, який призводить до вторинних пошкоджень фотосинтетичного апарату й метаболічних порушень [13]. Це істотно ускладнює відновлення нормальної життєдіяльності рослини після припинення посухи і посилює негативний вплив на кінцеву продуктивність. Важливу роль у знешкодженні АФК у хлоропластах і захисті фотосинтетичного апарату відіграють антиоксидантні ферменти СОД та АПО. Згідно з нашими даними, за оптимальних умов вологозабезпечення істотної відмінності активності СОД хлоропластів у прапорцевих листках рослин досліджуваних сортів не спостерігали. На 2-гу добу після припинення поливу в дослідних рослин сортів Миронівська 808 та Фаворитка активність СОД дещо знизилась порівняно з контрольними (рис. 3, а). З наростанням водного дефіциту вже на 4-ту добу активність СОД у листках рослин сорту Фаворитка перевищувала контрольний варіант майже на 30 %. Активність СОД у листках рослин сорту Миронівська 808 збільшувалась пізніше і менше, на 9-ту добу ґрунтової посухи вона становила 118 %.

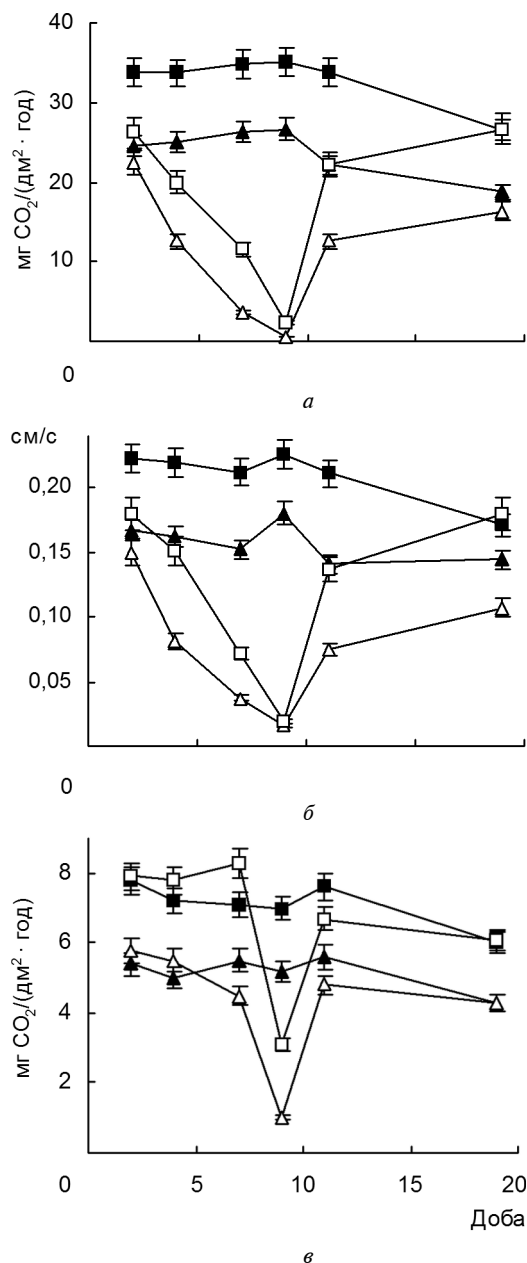


Рис. 2. Інтенсивність фотосинтезу (а), провідність для CO_2 (б) та інтенсивність фотодихання (в) прапорцевих листків озимої пшениці в умовах ґрунтової посухи і після поновлення поливу

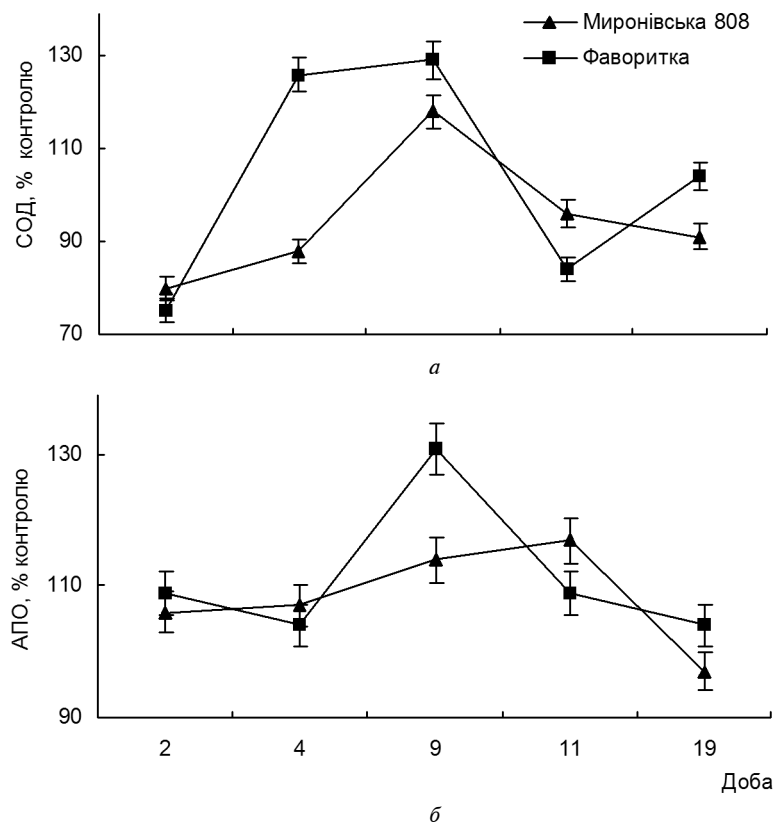


Рис. 3. Активність супероксиддисмутази (а) та аскорбатпероксидази (б) хлоропластів прапорцевих листків озимої пшениці в умовах ґрунтової посухи і після поновлення поливу

Активність АПО хлоропластів прапорцевих листків дослідних рослин на початку посухи мала тенденцію до збільшення порівняно з контролем (див. рис. 3, б). На 9-ту добу після припинення поливу в рослин сорту Миронівська 808 активність АПО була вищою на 14, у сорту Фаворитка — на 30 % відносно контролю. Через тиждень після поновлення поливу активності СОД і АПО повернулись до значень, близьких до контрольних.

Дані щодо структури врожаю головного пагона рослин озимої пшениці досліджуваних сортів наведено в таблиці. В оптимальних умовах вологозабезпечення рослини сорту Фаворитка характеризувались вищими показниками усіх компонентів продуктивності, ніж сорту Миронівська 808. У дослідних рослин маса зерна з колоса головного пагона зменшилась у сорту Фаворитка на 9, у сорту Миронівська 808 — на 31 % порівняно з контрольними варіантами. Зниження зернової продуктивності в досліджуваних сортів пов'язане в основному зі зменшенням маси 1000 зернин, тобто їх виповненості, тоді як число зернин у колосі практично не змінилось. Це означає, що рослини, фотосинтез яких пригнічувала посуха, були гірше забезпечені асимілятами, але в рослин сорту Фаворитка завдяки підтриманню асиміляційної активності на вищому рівні негативний ефект виражений значно слабкіше, ніж у сорту Миронівська 808.

Отже, за оптимальних умов вологозабезпечення рослини сорту Фаворитка характеризуються більшою інтенсивністю CO_2 -газообміну та вищою продиговою провідністю, ніж сорту Миронівська 808. Ґрунтова по-

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ

Продуктивність головного пагона рослин озимої пшениці сортів Миронівська 808 і Фаворитка за дії 9-добової посухи у період колосіння—цвітіння

Варіант	Маса, г			Кількість зерен, шт.	K _{госп} , %
	пагона	зерна	1000 зернин		
Миронівська 808, контроль	3,90 ± 0,04	1,75 ± 0,07	49,3 ± 0,09	36 ± 0,9	44,9 ± 0,5
Миронівська 808, дослід	2,80 ± 0,05	1,20 ± 0,05	35,5 ± 0,06	34 ± 0,6	42,9 ± 0,6
Фаворитка, контроль	4,38 ± 0,03	2,23 ± 0,08	50,0 ± 0,18	45 ± 0,7	50,9 ± 0,7
Фаворитка, дослід	3,76 ± 0,03	2,03 ± 0,12	44,5 ± 0,82	46 ± 0,6	54,0 ± 0,8

суха в період колосіння—цвітіння пригнічувала фотосинтетичну асиміляцію CO₂ у прапорцевих листках, проте у сорту Фаворитка — меншою мірою. Продихова провідність та інтенсивність фотосинтезу після поновлення поливу швидше відновлювались у сорту Фаворитка. Показано, що більша стійкість фотосинтетичного апарату до водного дефіциту в сорту Фаворитка порівняно із сортом Миронівська 808 пов'язана з вищими активністю антиоксидантних ферментів хлоропластів та інтенсивністю фотодихання, а краще підтримання активності фотосинтетичної асиміляції CO₂ в період посухи і швидше відновлення у післястресовий період зумовило менші втрати зернової продуктивності.

1. Моргун В.В., Киризий Д.А., Шадчина Т.М. Экофизиологические и генетические аспекты адаптации культурных растений к глобальным изменениям климата // Физиология и биохимия культ. растений. — 2010. — 42, № 1. — С. 3—22.
2. Стасик О.О. Реакція фотосинтетичного апарату C₃-рослин на водний дефіцит // Там само. — 2007. — 39, № 1. — С. 14—27.
3. Стасик О.О., Соколовская О.Г., Гуляев Б.И. Реакция фотосинтеза и фотодыхания разных по засухоустойчивости сортов яровой пшеницы на нарастающую почвенную засуху // Там же. — 2002. — 34, № 4. — С. 297—304.
4. Стасик О.О. Фотодихання та його фізіологічне значення // Физиология растений: проблемы та перспективи розвитку. — К.: Логос, 2009. — Т. 1. — С. 170—199.
5. Стороженко В.О., Шадчина Т.М. Роль антиоксидантних ферментів у захисті фотосинтетичного апарату від оксидного стресу // Регуляція фотосинтезу і продуктивність рослин: фізіологічні та екологічні аспекти. — К.: Фітосоціоцентр, 2006. — С. 100—130.
6. Таран Н.Ю., Оканенко О.А., Бацманова Л.М., Мусієнко М.М. Вторинний оксидний стрес як елемент загальної адаптивної відповіді рослин на дію несприятливих факторів довкілля // Физиология и биохимия культ. растений. — 2004. — 36, № 1. — С. 3—14.
7. Трач В.В., Стороженко В.А. Супероксиддисмутаза как компонент антиоксидантной системы растений при абиотических стрессовых воздействиях // Там же. — 2007. — 39, № 4. — С. 291—302.
8. Фотосинтез и биопродуктивность: методы определения / Под ред. А.Т. Мокроносова, А.Г. Ковалева. — М.: Агропромиздат, 1989. — 460 с.
9. Шматько И.Г., Григорюк И.А., Шведова О.Е. и др. Определение физиологической реакции зерновых культур на ухудшение водообеспеченности и повышение температуры: Метод. рекомендации / АН УССР, Ин-т физиологии растений. — Киев: Б.и., 1985. — 20 с.
10. Arnon D.I. Copper enzyme in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* // Plant Physiol. — 1949. — 24, N 1. — P. 1—15.
11. Asada K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions // Ibid. — 2006. — 141, N 2. — P. 391—396.
12. Chen G.-X., Asada K. Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence of two isozymes and the differences in their enzymatic and molecular properties // Plant Cell Physiol. — 1989. — 30, N 7. — P. 987—998.
13. Flexas J., Bota J., Galmes J. et al. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress // Physiol. plant. — 2006. — 127. — P. 343—352.
14. Foyer C.H., Noctor G. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling // New Phytol. — 2000. — 146. — P. 359—388.

15. *Giannopolitis C.N., Ries S.K.* Superoxide dismutase. Occurrence in higher plants // *Plant Physiol.* — 1977. — **59**, N 2. — P. 309—314.
16. *Heber U., Bligny R., Sireb P., Douce R.* Photorespiration is essential for the protection of the photosynthetic apparatus of C₃ plants against photoinactivation under sunlight // *Bot. Acta.* — 1996. — **109**. — P. 307—315.
17. *Kozaki A., Takeba G.* Photorespiration protects C₃ plants from photooxidation // *Nature.* — 1996. — **384**, N 12. — P. 557—560.
18. *Selote D.S., Khanna-Chopra R.* Drought acclimation confers oxidative stress tolerance by inducing coordinated antioxidant defense at cellular and subcellular level in leaves of wheat seedlings // *Physiol. plant.* — 2006. — **127**. — P. 494—506.
19. *Wilkinson S., Davis W.J.* ABA-based chemical signalling: the coordination of responses to stress in plants // *Plant Cell Environ.* — 2002. — **25**, N 2. — P. 439—449.
20. *Wingler A., Lea P.J., Quick W.P., Leegod R.C.* Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection // *Phil. Trans. Royal. Soc. London B.* — 2000. — **355**, N 5. — P. 1517—1529.

Отримано 28.05.2010

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АССИМИЛЯЦИИ CO₂ ЛИСТЬЕВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ

О.Г. Соколовская-Сергиенко, Д.А. Киризий, А.И. Полищук

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

В вегетационном опыте изучали влияние почвенной засухи в период колошение—цветение на активность антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы и аскорбатпероксидазы хлоропластов и фотосинтетическую ассимиляцию CO₂ флаговых листьев растений озимой пшеницы двух сортов, отличающихся по продуктивности. Показано, что для высокопродуктивного сорта Фаворитка как в оптимальных условиях влагообеспечения, так и в условиях засухи характерны более высокие интенсивность CO₂-газообмена и устьичная проводимость, чем для растений менее продуктивного сорта Мироновская 808. Полученные данные свидетельствуют, что лучшая устойчивость фотосинтетического аппарата к водному дефициту у сорта Фаворитка по сравнению с сортом Мироновская 808 связана с более высокими активностью антиоксидантных ферментов хлоропластов и интенсивностью фотодыхания, что обусловило меньшие потери зерновой продуктивности первого сорта под влиянием засухи.

ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES AND PHOTOSYNTHETICAL CO₂ ASSIMILATION IN WINTER WHEAT LEAVES UNDER SOIL DROUGHT CONDITIONS

O.G. Sokolovska-Sergienko, D.A. Kiriziy, G.I. Polischuk

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

The effect of soil drought at stage earing—flowering on the antioxidant enzymes superoxide dismutase and ascorbat peroxidase activity and photosynthetic CO₂ assimilation of flag leaves of two contrast by productivity winter wheat cultivars has been investigated in pot experiment. It was shown that high productive cultivar Favoritka had higher CO₂ exchange rate and stomatal conductivity both at optimal watering conditions and under drought than less productive cultivar Mironovskaya 808. Obtained data confirm that better resistance of photosynthetic apparatus to water deficit of cultivar Favoritka as compared to Mironovskaya 808 concerned with higher chloroplast antioxidant enzymes activity and photorespiration rate, that made for lesser losses of grain productivity of first cultivar under drought influence.

Key words: *Triticum aestivum* L., photosynthesis, photorespiration, superoxide dismutase, ascorbat peroxidase, drought.