

УДК 581.131

## ІНТЕНСИВНІСТЬ ФОТОСИНТЕЗУ ТА АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ ХЛОРОПЛАСТІВ ПРАПОРЦЕВИХ ЛИСТКІВ ПШЕНИЦІ В ПЕРІОД НАЛИВАННЯ ЗЕРНА

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

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України  
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17*

В умовах вегетаційного дослідження вивчали динаміку інтенсивності фотосинтезу, активності супероксиддисмутази (СОД) та аскорбатпероксидази (АПО) хлоропластів прапорцевих листків у фазі цвітіння—молочно-воскової стиглості зерна трьох сортів озимої м'якої пшениці: Миронівська 808, Смуглянка, Фаворитка. Показано, що підвищення активності первинного ферменту антиоксидантної системи захисту фотосинтетичного апарату — хлоропластної СОД гальмує зниження інтенсивності фотосинтезу прапорцевих листків високоінтенсивних сортів (Смуглянка, Фаворитка) в період наливання зерна, що сприяє повнішій реалізації потенціалу їх зернової продуктивності.

*Ключові слова:* *Triticum aestivum* L., фотосинтез, супероксиддисмутаза, хлоропласти, продуктивність.

Активність фотосинтетичного апарату листків, їх площа та тривалість функціонування визначають кількість поглинутого рослиною вуглекислого газу, що включається в органічні сполуки, й отже — загальну продуктивність рослинного організму [7]. Іншою важливою складовою продукційного процесу є характер розподілу фіксованого вуглецю між органами та частинами рослини, що формує коефіцієнт господарської ефективності врожаю ( $K_{\text{госп}}$ ) [6]. У рослин пшениці максимальна інтенсивність фотосинтезу прапорцевого листка зазвичай спостерігається у фазі колосіння—цвітіння і поступово зменшується в період наливання зерна. В літературі наголошується, що переважна більшість асимілятів, які надходять у зернівку під час її досягання, забезпечується поточним фотосинтезом прапорцевого листка [1], тому якомога довше збереження його фотосинтетичної активності сприяє підвищенню врожайності пшениці, є цінною ознакою для селекції на продуктивність.

При зниженні швидкості фіксації  $\text{CO}_2$  зменшується споживання НАДФ $\cdot\text{H}_2$  у циклі Кальвіна. Електронний ланцюг стає надвідновленим, утворює у хлоропластах супероксидні радикал-аніони  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , які є джерелом формування гідроксильних радикалів  $\text{OH}^{\cdot}$  і пероксиду водню. Останні здатні реагувати з білками, ліпідами, нуклеїновими кислотами і спричинювати деструктивні процеси. У фотосинтетичному апараті існують механізми елімінації активних форм кисню (АФК), в яких послідовно беруть участь два ключові ферменти: супероксиддисмутаза та аскорбатпероксидаза [9, 12]. Фермент СОД (КФ 1.15.1.1) каталізує реакцію дисмутації супероксидних радикалів у  $\text{H}_2\text{O}_2$  та  $\text{O}_2$ , аскорбатпероксидаза (КФ 1.11.1.11) каталізує реакцію окиснення аскорбінової кислоти пероксидом водню.

За стресових умов (посуха, засолення, порушення мінерального живлення) активність цих ферментів негативно корелює з інтенсивністю фотосинтезу прапорцевих листків пшениці [2], тобто «окиснювальний вибух», який спостерігається в рослинах за дії стресорів, спричинює зменшення активності фотосинтетичного апарату. Очевидно, антиоксидантні ферменти запобігають його остаточному пригніченню. Є свідчення, що стійкість рослин до стресів позитивно корелює з ефективністю функціонування їх антиоксидантних систем [3, 4, 15]. Старіння листків теж можна розглядати як своєрідний стрес, що супроводжується утворенням активних форм кисню. Ймовірно, що антиоксидантні системи задіяні у захисті фотосинтетичного апарату прапорцевих листків пшениці не тільки за стресових умов, а й за природного їх старіння.

Метою роботи було дослідження динаміки інтенсивності фотосинтезу та активності антиоксидантних ферментів у хлоропластах — супероксиддисмутази та аскорбатпероксидази у різних за продуктивністю сортів озимої пшениці у фазі цвітіння—молочно-воскової стиглості.

### Методика

Об'єктами досліджень були сорти озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.): Миронівська 808 — напівінтенсивного типу, Смуглянка і Фаворитка — високоінтенсивного типу. Рослини вирощували в умовах вегетаційного досліду. Для цього в період весняного відростання з ділянок відбирали зразки рослин озимої пшениці і висаджували в посудини на 10 кг ґрунту з додаванням 1 г нітроамофоски на 1 кг сірого опідзоленого ґрунту. В одну посудину висаджували по 15 рослин. У фазу виходу в трубку всі рослини підживлювали  $\text{KNO}_3$  та  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  із розрахунку по 2 г кожної солі на посудину. Вологість ґрунту підтримували на рівні 60 % ПВ поливанням згори і в трубку.

Інтенсивність фотосинтезу реєстрували за контрольованих умов на установці, змонтованій на базі оптико-акустичного інфрачервоного газоаналізатора ПІАМ-5М, увімкненого за диференційною схемою. Невідокремлені від рослин прапорцеві листки (по 2 паралельно) розміщували у термостатованій (+25 °С) камері розміром 3×7 см та освітлювали лампою розжарювання КГ-2000 крізь водяний фільтр для усунення надлишку інфрачервоної радіації у спектрі її випромінювання. Густина променевого потоку на рівні листків становила 400 Вт/м<sup>2</sup> фотосинтетично активної радіації (ФАР). Крізь камеру продували атмосферне повітря зі швидкістю 1 л/хв. Інтенсивність фотосинтезу вимірювали через 40 хв після розміщення листків у камері, коли показники газообміну виходили на стаціонарний рівень. Розрахунки показників газообміну проводили згідно із загальноприйнятою методикою [5].

Хлоропласти виділяли механічним способом за температури 0—4 °С. Середню наважку (2 г) прапорцевих листків пшениці гомогенізували у 7-разовому об'ємі буферного розчину такого складу: 0,33 М сорбітол, 5 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 0,1 % БСА, 4 мМ аскорбінова кислота, 50 мМ *трис*-HCl (рН 7,5). Гомогенат фільтрували крізь 2 шари капронової тканини, центрифугували на центрифугі К-24 Д за 80 г й температури 0—4 °С протягом 5 хв для осадження важких часточок. Надосадову рідину зливали в інші попередньо охолоджені центрифужні пробірки і центрифугували за 2000 г упродовж 10 хв для отримання фракції хлоропластів. Осад хлоропластів ресуспендували в ізотонічному середовищі з 4 мМ аскорбінової кислоти, 50 мМ *трис*-HCl (рН 7,5) об'ємом 2 мл і в подальшому використовували для визначення активності СОД та АПО.

Активність СОД визначали за допомогою нітротетразолієвого блакитного за довжини хвилі 560 нм [13].

Активність АПО вимірювали в ультрафіолетовій ділянці спектра за 290 нм за методом Чена й Асади [10]. Вміст хлорофілу в суспензії хлоропластів визначали за методом Арнона [8].

Досліди та аналізи проводили в 3–4-разовій повторності, результати оброблені статистично.

### Результати та обговорення

Інтенсивність фотосинтезу прапорцевих листків досліджених сортів пшениці протягом періоду наливання зерна зменшувалась (рис. 1). Найнижчі значення цього параметра та найсильніше його падіння спостерігалися у сорту Миронівська 808. У сортів Смуглянка і Фаворитка інтенсивність фотосинтезу була на 20–30 % вищою, а її зниження відбувалося повільніше, ніж у сорту Миронівська 808. Водночас у прапорцевих листках усіх досліджених сортів у період між фазами цвітіння та молочної стиглості активність хлоропластної СОД підвищувалась, причому цей ефект був значно сильніше виражений у сортів Смуглянка і Фаворитка (збільшення на 77 %), порівняно з Миронівською 808 (збільшення на 37 %). У подальшому в сортів Смуглянка і Миронівська 808 спостерігалася тенденція до зниження цього показника, у сорту Фаворитка він стабілізувався на рівні близько 1400 відн. од./мг хл.

Зміни активності АПО протягом дослідженого періоду були неістотними. Вірогідних генотипних відмінностей за активністю цього ферменту також не виявлено, тому в подальшому при обговоренні результатів ми зосередили увагу саме на СОД.

Розрахунками листової та мезофільної провідності для  $\text{CO}_2$  виявлено, що, по-перше, ці показники у сортів Смуглянка і Фаворитка були вищими, ніж у сорту Миронівська 808, по-друге, інтенсивність фотосинтезу протягом дослідженого періоду зменшувалась переважно внаслідок зниження провідності мезофілу (рис. 2). Листкова провідність, яка визначається в основному функціонуванням продигового апарату, знижувалась меншою мірою.

Відомо, що більшу частину провідності мезофілу визначає активність ключового ферменту циклу Кальвіна — РБФК/О [5]. Його кількість у нормально функціонуючому листку вельми значна і становить до 50 % розчинного білка, що містить до 30 % загального азоту листка [14]. У процесі наливання зерна азотовмісні сполуки ремобілізуються з вегетативних частин і відтікають до зернівок, де із них формуються запасні білки. Звісно, у цей процес насамперед залучається РБФК/О як найпотужніше депо азоту в листках, що призводить до поступового зменшення його кількості. Це явище лежить в основі зниження провідності мезофілу та інтенсивності асиміляції  $\text{CO}_2$  листками (див. рис. 1, 2). Наслідком цього є зменшення споживання НАДФ· $\text{H}_2$  у циклі Кальвіна, що призводить до надвідновлення електронтранспортного ланцюга й утворення у хлоропластах АФК (насамперед супероксидних радикал-аніонів), які ушкоджують фотосинтетичні мембрани. У зв'язку з цим підвищення активності хлоропластної СОД у фази молочно-молочно-воскової стиглості можна розглядати як захисну реакцію фотосинтетичного апарату на оксидний стрес. Логічно припустити, що саме через це у сортів Смуглянка і Фаворитка, в яких активність СОД зростала в 2 рази більше, ніж у сорту Миронівська 808, інтенсивність фотосинтезу зни-

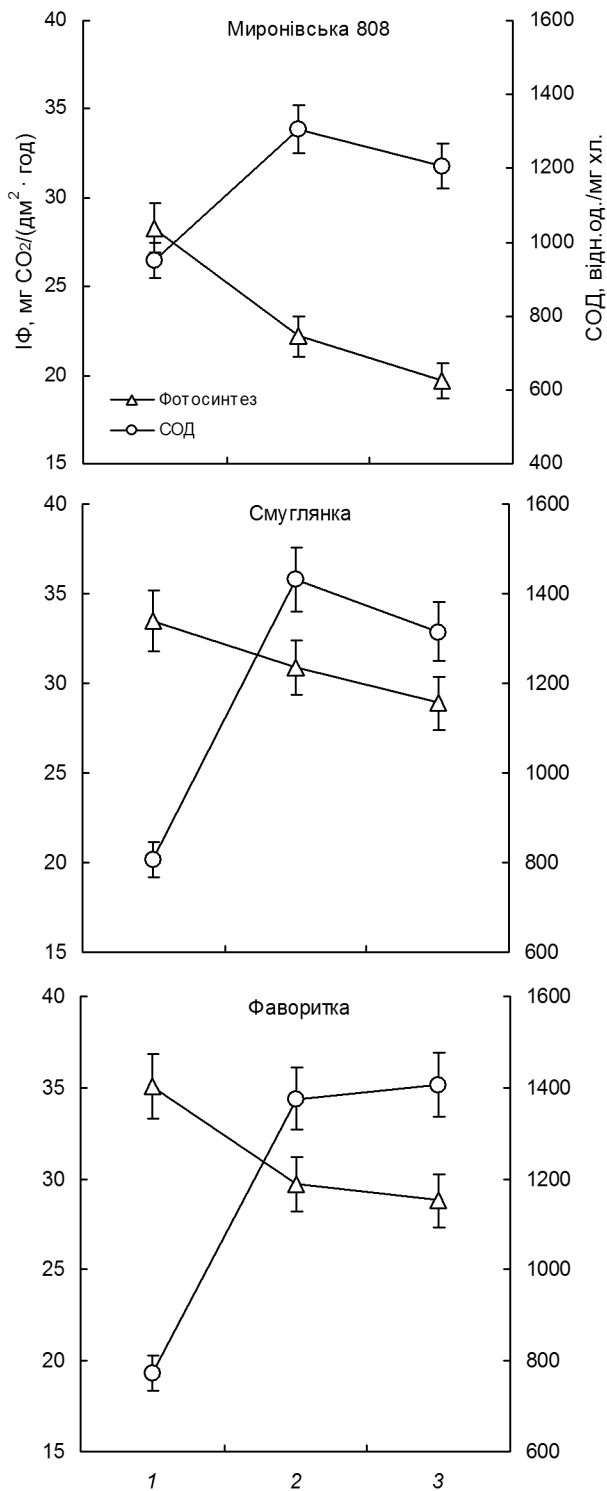


Рис. 1. Інтенсивність фотосинтезу та активність СОД хлоропластів у прапорцевому листку сортів пшениці різної продуктивності у фази вегетації:

1 — цвітіння; 2 — молочна стиглість; 3 — молочно-воскова стиглість

жувалась повільніше і підтримувалась на вищому рівні.

Аналізом зв'язку між активністю хлоропластної СОД та інтенсивністю фотосинтезу виявлено його нелінійний характер, що описується квадратичним рівнянням із доволі високим коефіцієнтом кореляції (рис. 3). Ця крива складається з двох частин — низхідної та висхідної. Перша збігається з описаною в літературі оберненою залежністю між активністю СОД та інтенсивністю фотосинтезу за стресових умов [2] і свідчить про посилення утворення АФК під час старіння листків. Друга частина кривої — висхідна, на нашу думку, ілюструє захисну роль СОД, із подальшим підвищенням активності якої інтенсивність фотосинтезу підтримується на вищому рівні внаслідок кращої елімінації АФК та запобігання uszkodженню фотосинтетичних структур. Точки на її висхідній частині отримані для рослин сортів Смуглянка і Фаворитка у фази молочної та молочно-воскової стиглості. Можна припустити, що підвищена активність хлоропластної СОД у прапорцевих листках рослин цих сортів сприяє підтриманню функціонального стану фотосинтетичного апарату на вищому рівні порівняно із сортом Миро-

## ІНТЕНСИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА И АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ

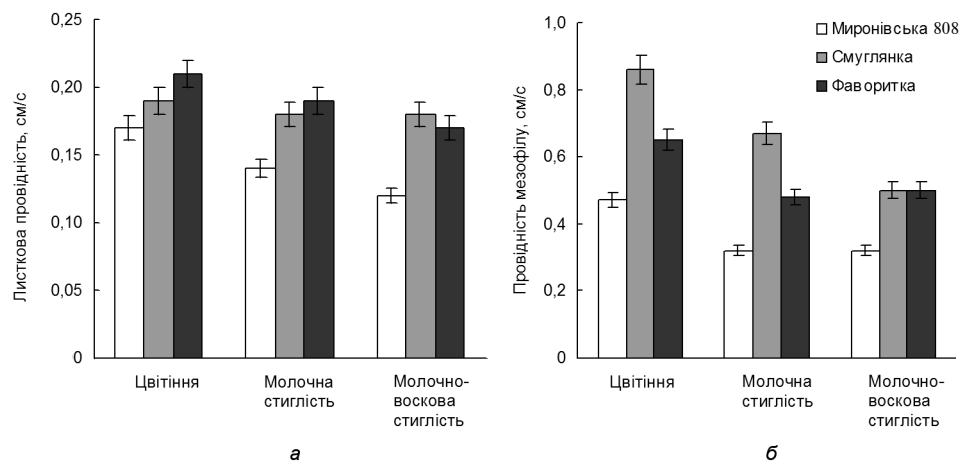


Рис. 2. Листкова провідність (а) та провідність мезофілу (б) прапорцевого листка сортів озимої пшениці

нівська 808 за умов зменшення активності РБФК/О у період наливання зерна та поступового старіння листків. У свою чергу, вища інтенсивність фотосинтезу прапорцевих листків протягом наливання зерна забезпечила вищу зернову продуктивність сортів Смуглянка і Фаворитка порівняно з Миронівською 808 (таблиця). До того ж це сорти високоінтенсивного типу з поліпшеним розподілом асимілятів, що відбилося у збільшеному  $K_{\text{госп}}$ .

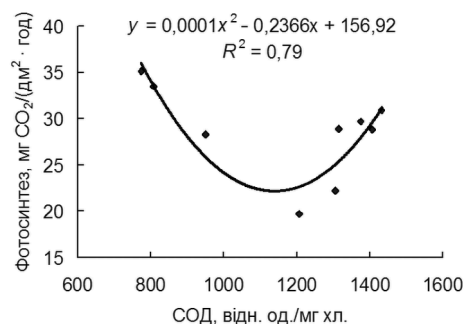


Рис. 3. Зв'язок між активністю СОД хлоропластів та інтенсивністю фотосинтезу у прапорцевому листку різних сортів пшениці у фазі цвітіння — молочно-воскової стиглості

Структура урожаю головного пагона різних за продуктивністю сортів озимої пшениці

Сорт	Маса сухої речовини, г			Кількість зерен, шт.	$K_{\text{госп}}$
	пагона	зерен у колосі	1000 зернин		
Миронівська 808	3,62 ± 0,12	1,71 ± 0,03	47 ± 4	36 ± 3	0,47 ± 0,01
Смуглянка	4,26 ± 0,28	2,12 ± 0,06	48 ± 1	44 ± 2	0,50 ± 0,03
Фаворитка	4,79 ± 0,12	2,49 ± 0,04	55 ± 3	45 ± 2	0,53 ± 0,01

Отже, підвищення активності первинного ферменту антиоксидантної системи захисту фотосинтетичного апарату — хлоропластної СОД гальмує зниження інтенсивності фотосинтезу прапорцевих листків високоінтенсивних сортів пшениці в період наливання зерна, що сприяє повнішій реалізації потенціалу їх зернової продуктивності.

1. *Применение физиологии растений в селекции пшеницы* / Под ред. В.В. Моргуна. — Киев: Логос, 2007. — 492 с.
2. *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.

3. 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.
4. Трач В.В., Стороженко В.А. Супероксиддисмутаза как компонент антиоксидантной системы растений при абиотических стрессовых воздействиях // Там же. — 2007. — **39**, № 4. — С. 291—302.
5. Фотосинтез и биопродуктивность: методы определения / Под ред. А.Т. Мокроносова, А.Г. Ковалева. — М.: Агропромиздат, 1989. — 460 с.
6. Шадчина Т.М., Гуляев Б.Л., Кірізій Д.А. та ін. Регуляція фотосинтезу і продуктивність рослин: фізіологічні та екологічні аспекти. — К.: Фітосоціоцентр, 2006. — 384 с.
7. Эдвардс Дж., Уокер Д. Фотосинтез C<sub>3</sub>-, C<sub>4</sub>-растений — механизмы и регуляция. — М.: Мир, 1986. — 598 с.
8. Arnon D.I. Copper enzyme in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* // Plant Physiol. — 1949. — **24**, N 1. — P. 1—15.
9. Asada K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions // Ibid. — 2006. — **141**, N 2. — P. 391—396.
10. 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.
11. Dash S., Mohanty N. Respons of seedlings to heat-stress in cultivars of wheat: growth temperature-dependent differential modulation of photosystem 1 and 2 activity, and foliar antioxidant defense capacity // Plant Physiol. — 2002. — **159**, N 1. — P. 49—59.
12. Foyer C.H., Noctor G. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling // New Phytol. — 2000. — **146**. — P. 359—388.
13. Giannopolitis C.N., Ries S.K. Superoxide dismutase. Occurrence in higher plants // Plant Physiol. — 1977. — **59**, N 2. — P. 309—314.
14. Lawlor D.W. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems // J. Exp. Bot. — 2002. — **53**, N 370. — P. 773—787.
15. Selote D.S., Khanna-Chopra R. Drought acclimation confers oxidative stress tolerance by inducing co-ordinated antioxidant defense at cellular and subcellular level in leaves of wheat seedlings // Physiol. Plant. — 2006. — **127**. — P. 494—506.

Отримано 13.07.2009

#### ИНТЕНСИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА И АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ ХЛОРОПЛАСТОВ ФЛАГОВЫХ ЛИСТЬЕВ ПШЕНИЦЫ В ПЕРИОД НАЛИВА ЗЕРНА

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

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

В условиях вегетационного опыта изучали динамику интенсивности фотосинтеза, активности супероксиддисмутазы (СОД) и аскорбатпероксидазы (АПО) хлоропластов флаговых листьев в фазы цветения—молочно-восковой спелости зерна трех сортов озимой мягкой пшеницы: Мироновская 808, Смуглянка, Фаворитка. Показано, что повышение активности первичного фермента антиоксидантной системы защиты фотосинтетического аппарата — хлоропластной СОД тормозит снижение интенсивности фотосинтеза флаговых листьев высокоинтенсивных сортов (Смуглянка, Фаворитка) в период налива зерна, способствуя более полной реализации потенциала их зерновой продуктивности.

#### INTENSITY OF PHOTOSYNTHESIS AND ACTIVITY OF CHLOROPLAST SUPEROXIDE DISMUTASE IN WHEAT FLAG LEAVES DURING RIPENING

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

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

The dynamics of net photosynthetic rate as well as activity of superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APO) in wheat chloroplasts have been studied in pot experiments. Three cultivars of bread wheat were investigated: Myronivska 808, Smuglianka and Favorytka during flowering — milkwax ripeness stages. It was shown that increasing of activity of primary enzyme of photosynthetic apparatus antioxidant system — chloroplast-located SOD inhibits decreasing of photosynthetic activity in flag leaves of high-intensive cultivars (Smuglianka and Favorytka) during ripening and promotes more complete realization of grain productivity potential.

*Key words:* *Triticum aestivum* L., photosynthesis, superoxide dismutase, chloroplasts, productivity.