

УДК 581.131: 632.954

СОРТОВІ ВІДМІННОСТІ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ В РЕАКЦІЇ НА ПОСУХУ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ ХЛОРОПЛАСТІВ ТА АСИМІЛЯЦІЇ CO₂

О.Г. СОКОЛОВСЬКА-СЕРГІЄНКО

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

У вегетаційному досліді вивчали реакцію на ґрунтову посуху антиоксидантних ферментів хлоропластів та CO₂-газообмін прапорцевого листка у рослин сучасного високопродуктивного сорту Фаворитка та менш продуктивного сорту старої селекції Миронівська 808 у період колосіння – цвітіння. Як за оптимального вологозабезпечення, так і за умов посухи рослини сорту Фаворитка характеризувалися вищим вмістом хлорофілу та більшою інтенсивністю асиміляції CO₂, ніж сорту Миронівська 808. Показано, що більша стійкість фотосинтетичного апарату до ґрунтової посухи в рослин сорту Фаворитка пов'язана з вищими активністю антиоксидантних ферментів хлоропластів та інтенсивністю фотодихання. Це зумовило менші втрати зернової продуктивності за дії посухи у рослин сорту Фаворитка порівняно із Миронівською 808.

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

Вступ. Посуха є одним із основних несприятливих чинників довкілля, що істотно знижує величину і якість урожаю сільськогосподарських культур внаслідок зменшення функціональної активності фотосинтетичного апарату [1, 2]. В умовах посухи пригнічується інтенсивність асиміляції CO₂ і накопичуються електрони у електронтранспортному ланцюгу хлоропластів, що призводить до відновлення ними кисню. При цьому утворюються супероксидні аніон-радикали O₂^{•-}, які є джерелом гідроксильних радикалів OH[•] і пероксиду водню H₂O₂ [3–5]. Ці активні форми кисню здатні неконтрольовано реагувати з білками, ліпідами, нуклеїновими кислотами і спричиняти ряд деструктивних процесів: фотоокиснення хлорофілу, пероксидне окиснення ліпідів та сульфгідрильних груп білків хлоропластних мембран, порушення структури хлоропластної ДНК. У фотосинтетичному апараті однією з найважливіших систем захисту від активних форм кисню є антиоксидантна система хлоропластів – ферменти супероксиддисмутаза (СОД) та аскорбатпероксидаза (АПО) [6–8].

Ступінь стійкості рослин до дії стресів варіює як у різних видів, так і в різних сортів одного і того ж виду. В умовах зростаючої нестабільності клімату глибокі знання фізіологічних механізмів, що зумовлюють відмінності генотипів культурних рослин за стійкістю до дії несприятливих зовнішніх чинників, є важливим для створення нових високопродуктивних сортів [9, 10]. У зв'язку з цим метою нашої роботи було дослідити реакцію фотосинтетичного апарату та антиоксидантних ферментів хлоропластів на ґрунтову посуху у прапорцевому листку

© О.Г. СОКОЛОВСЬКА-СЕРГІЄНКО, 2011

рослин нового високопродуктивного сорту озимої пшениці порівняно зі старим менш продуктивним.

Матеріали і методи

Об'єктами досліджень були сорти озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) різної продуктивності: новий високопродуктивний сорт Фаворитка та менш продуктивний старої селекції – Миронівська 808. Рослини вирощували у посудинах Вагнера, які вміщували 10 кг суміші сірого опідзеленого ґрунту з піском (3:1) із додаванням NPK (по 2 г діючої речовини на посудину). Вологість ґрунту контролювали гравіметричним методом і підтримували на рівні 60 % повної вологоємності. У фазу колосіння – початок цвітіння припинили полив рослин у посудинах дослідного варіанта. Через дві доби вологість ґрунту в посудинах знизилась до 30 % і підтримувалась дозованим поливом на цьому рівні ще 7 діб. На 10-у добу після початку експерименту відновили полив дослідних рослин до рівня контрольних (60 % ПВ). Протягом періоду посухи та на наступний день і через тиждень після відновлення поливу визначали параметри водного режиму, CO₂-газообміну та активність супероксиддисмутази і аскорбатпероксидази хлоропластів прапорцевих листків.

Водний дефіцит визначали за стандартною методикою [11]. Вимірювання інтенсивності фотосинтезу і фотодихання невідокремлених від рослин прапорцевих листків проводили за допомогою інфрачервоного газоаналізатора ГІАМ-5М, транспірації – термоелектричним мікропсихрометром при температурі 25 °С та інтенсивності ФАР 400 Вт/м². Джерелом світла була лампа розжарювання КГ-2000 з водяним фільтром. Показники газообміну та листову провідність для CO₂ розраховували згідно зі стандартною методикою [12]. Інтенсивність фотодихання оцінювали за максимумом виділення CO₂ в перші

60 с після затемнення листка. Повторність визначення вмісту води і водного дефіциту була десятикратна, параметрів газообміну – чотирикратна.

Активність ферментів визначали у хлоропластах. Хлоропласти виділяли механічним способом за температури 0 – 4 °С. Середню наважку (2 г) прапорцевих листків пшениці гомогенізували в 7-кратному об'ємі буферного розчину такого складу: 0,33 М сорбітол, 5 мМ MgCl₂, 0,1 % БСА, 4 мМ аскорбінова кислота та 50 мМ трис-НCl (рН 7,5). Гомогенат фільтрували через 2 шари капронової тканини та центрифугували на центрифугу К-24D при 80 г та температурі 0–4 °С протягом 5 хв для осадження важких часточок. Надосадову рідину зливали в інші попередньо охолоджені центрифужні пробірки та центрифугували при 2000 г 10 хв для отримання фракції хлоропластів. Осад хлоропластів ресуспендували в ізотонічному середовищі з 4 мМ аскорбінової кислоти, 50 мМ трис-НCl (рН 7,5) об'ємом 2 мл і в подальшому використовували для визначення активності СОД та АПО.

Активність СОД вимірювали за допомогою нітротетразолієвого блакитного при довжині хвилі 560 нм [13]. Активність АПО вимірювали в ультрафіолетовій ділянці спектра при 290 нм за методом Чена й Асади [14]. Вміст хлорофілу в суспензії хлоропластів визначали за методом Арнона [15].

Результати оброблені статистично. На рисунках і в таблиці наведено середні значення та їхню стандартну похибку.

Результати та обговорення

На 2-у добу після припинення поливу вологість ґрунту знизилась до 30 % ПВ, але суттєвих змін водного дефіциту та оводнення листків в обох досліджуваних сортах ще не спостерігали (таблиця). Подальше перебування рослин за умов посухи призвело до суттєвого збільшення водного

дефіциту листків: на 4-у добу посухи водний дефіцит зріс у 2 рази у Миронівської 808 та 1,5 рази у Фаворитки порівняно з контрольними варіантами. При цьому оводненість листків у Фаворитки практично не змінилась, а в Миронівської 808 дещо знизилась. На 9-у добу після припинення поливу водний дефіцит зріс у 4,3 рази у Миронівської 808 і у 3 рази – у Фаворитки при відповідному зниженні вмісту води на 17 % та 8 %.

Фотосинтетична активність рослин і їхня продуктивність залежить від стану пігментної системи листків, зокрема вмісту хлорофілів. Рослини сорту Фаворитка як у контролі, так і за умов посухи характеризувалися вищим вмістом суми хлорофілів ($a+b$) у прапорцевому листку, ніж Миронівської 808 (див. табл.), та меншим впливом посухи на цей показник. Так, на 4-у добу після припинення поливу вміст хлорофілів у Миронівської 808 зменшився на 25 % від

контрольного варіанта, а на 9-у добу – на 45 %. У Фаворитки вміст суми хлорофілів знизився меншою мірою – на 8 і 41 % відповідно. Поновлення поливу сприяло повному відновленню до контрольного рівня вмісту хлорофілу у Фаворитки, а в Миронівської 808 цей показник відновився лише до 75 % від контролю.

В умовах посухи пригнічується фіксація CO_2 (в першу чергу внаслідок закриття продохів) і зменшується споживання НАДФН у циклі Кальвіна. Електронтранспортний ланцюг стає надвідновленим, утворюючи в хлоропластах супероксидні аніон-радикали кисню [5]. У знешкодженні активних форм кисню в рослині беруть участь антиоксидантні ферменти супероксиддисмутаза та аскорбатпероксидаза. Наші дослідження показали, що за оптимальних умов вологозабезпечення активність супероксиддисмутази хлоропластів у прапорцевих листках рослин досліджува-

Таблиця. Вплив ґрунтової посухи на водний дефіцит, вміст хлорофілу ($a + b$) та активність антиоксидантних ферментів хлоропластів прапорцевого листка у рослин озимої пшениці

Показники	Доба експерименту				
	2	4	9	11	19
Сорт Миронівська 808					
Водний дефіцит, %	<u>7,2±0,7</u> 8,9±0,4	<u>9,9±0,7</u> 18,4±0,2	<u>8,1±0,2</u> 34,6±2,2	<u>8,3±0,6</u> 12,7±0,2	<u>9,3±0,7</u> 10,8±0,5
Вміст хлорофілу, мг/г сух.реч.	<u>16,4±0,4</u> 15,0±0,1	<u>18,5±0,4</u> 13,6±0,2	<u>16,1±0,1</u> 8,9±0,1	<u>17,2±0,1</u> 10,2±0,2	<u>15,6±0,1</u> 11,7±0,4
СОД, відн.од./мг мл	380±12 303±14	392±7 344±5	597±8 703±9	514±19 494±21	410±7 376±13
АПО, мкмоль аск. к-ти/мг хл год	<u>944±12</u> 1002±18	<u>925±5</u> 990±16	<u>617±13</u> 702±9	<u>759±12</u> 887±24	<u>1028±23</u> 994±13
Сорт Фаворитка					
Водний дефіцит, %	<u>7,5±0,5</u> 8,4±0,4	<u>9,1±0,7</u> 12,9±0,8	<u>8,9±0,4</u> 27,4±1,1	<u>8,7±0,5</u> 10,4±0,1	<u>9,7±0,7</u> 9,9±0,8
Вміст хлорофілу, мг/г сух.реч.	<u>17,7±0,4</u> 17,9±1,1	<u>20,7±0,2</u> 19,1±0,2	<u>19,2±0,4</u> 11,4±0,3	<u>18,8±1,4</u> 15,3±0,5	<u>16,4±0,5</u> 16,5±0,7
СОД, відн.од./мг мл	404±3 305±4	373±3 469±4	546±12 710±19	494±25 417±18	525±13 546±14
АПО, мкмоль аск. к-ти/мг хл год	<u>892±5</u> 971±7	<u>939±7</u> 975±9	<u>540±16</u> 707±5	<u>797±5</u> 869±8	<u>990±7</u> 945±6

Примітка: над рискою – контроль, під рискою – дослід; доби експерименту: 2, 4, 9 – доби посухи, 11 – друга доба після поновлення поливу, 19 – дев'ята доба після поновлення поливу.

них сортів майже не різнилася (див. табл.). На 2-у добу після припинення поливу в рослин сорту Миронівська 808 активність СОД зменшилася порівняно з контрольними варіантами на 20 %, а у Фаворитки – на 25 %. Із наростанням водного дефіциту активність СОД у Фаворитки значно зросла і становила 130% контрольного варіанта, тоді як у Миронівської 808 вона збільшилася пізніше і менше – на 9-у добу посухи вона перевищила контроль лише на 18 %. Поновлення поливу сприяло відновленню активності СОД до рівня контролю.

Активність АПО хлоропластів прапорцевих листків на 2–4-у добу посухи дещо зросла, хоча суттєвої різниці за цим показником між сортами не спостерігалось. На 9-у добу посухи у сорту Миронівська 808 активність АПО була більшою на 14 %, а у Фаворитки – на 30 % від контрольних значень. Після поновлення нормального поливу у дослідних рослин активність АПО зберігалася на підвищеному рівні: у Миронівської 808 вона була на 17 %, а у Фаворитки – на 9 % більше, ніж у контрольних.

Інтенсивність видимого фотосинтезу прапорцевих листків рослин сорту Фаворитка протягом досліджуваного періоду в оптимальних умовах вологозабезпечення була вищою в середньому на 36%, ніж у Миронівської 808 (рис. 1, а). За дії посухи інтенсивність фотосинтезу зменшувалася тим сильніше, чим більшою була тривалість перебування рослин за стресових умов, але ці зміни були сильніше виражені у Миронівської 808. Так, на 7-у добу ґрунтової посухи інтенсивність видимого фотосинтезу у Фаворитки зменшилася на 67 %, а у Миронівської 808 – на 87 % порівняно з контролем. Дев'ятидобова посуха майже повністю інгібувала інтенсивність асиміляції CO_2 у рослин сорту Миронівська 808, тоді як у Фаворитки ще спостерігали деяку фотосинтетичну активність. Відновлення інтенсивності фотосинтезу після поновлення поливу у Фаворитки було швидшим і повнішим, ніж у Миронівської 808.

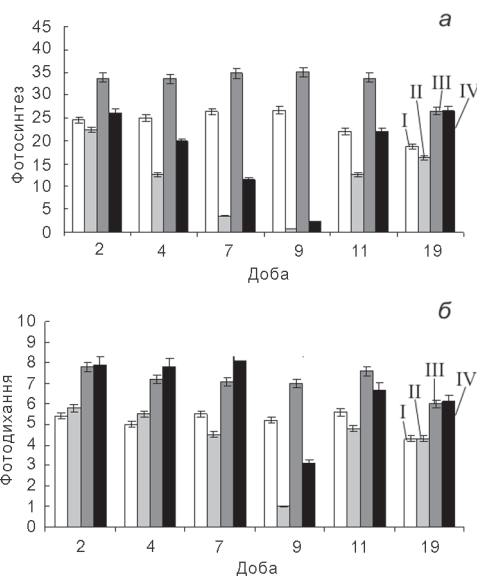


Рис. 1. Інтенсивність фотосинтезу (а) та фотодихання (б) прапорцевого листка рослин озимої пшениці двох сортів за умов ґрунтової посухи і поновлення поливу (2, 4, 9 доби – доби посухи, 11 доба – друга доба після поновлення поливу, 19 доба – дев'ять доба після поновлення поливу): I – Миронівська 808, контроль; II – Миронівська 808, дослід; III – Фаворитка, контроль; IV – Фаворитка, дослід

Причиною зменшення фотосинтезу на початкових етапах посухи вважається зниження продигової провідності. Це зниження обумовлене дією АБК, що надходить по ксилемі з током води із кореня і спричинює закривання продихів [16]. Також зменшення швидкості асиміляції CO_2 за тривалого недостатнього вологозабезпечення може спричинятися непродиховим лімітуванням внаслідок зниження швидкості регенерації РБФ у циклі Кальвіна, ефективності карбоксилювання, активності та кількості РБФК/О. Показано, що зменшення синтезу РБФ обумовлене дефіцитом АТФ внаслідок інгібування АТФази [2]. Зниження швидкості асиміляції CO_2 у рослин за умов м'якої і помірної посухи, як правило, супроводжується посиленням активності фотодихання [17, 18]. Таке підвищення ін-

тенсивності фотодихання на початкових етапах посухи сприяє утилізації надлишку відновлювальних еквівалентів у хлоропластах, запобігаючи фотоінгібуванню фотосинтетичного апарату.

Нами виявлено, що на початку ґрунтової посухи реакція фотодихання прапорцевих листків рослин обох сортів була однаковою (рис. 1, б): на 2-у та 4-у доби після припинення поливу інтенсивність фотодихання у них була вищою за контроль. Проте вже на 7-у добу після припинення поливу в дослідних рослин Миронівської 808 інтенсивність фотодихання знизилася на 20 % від контрольного рівня, а у Фаворитки фотодихання продовжувало зростати. Тривала посуха (9-а доба) пригнічувала фотодихання в обох сортів: у Миронівської 808 – на 80 %, у Фаворитки – на 56 % порівняно з контрольними варіантами. Через тиждень після поновлення поливу активність фотодихання у рослин дослідних варіантів обох сортів досягла контрольних показників.

За оптимальних умов вологозабезпечення зернова продуктивність головного пагона рослин сорту Фаворитка була вищою, ніж у Миронівської 808 (рис. 2). Посуха в період цвітіння призвела до зменшення маси зерна з колоса головного пагона у Фаворитки на 9 %, а у Миронівської 808 – на 31 % порівняно з контрольними варіантами. Зменшення зернової продуктивності в обох сортів було пов'язане, в основному, зі зниженням маси 1000 зерен, тобто їх виповненості, тоді як кількість зерен у колосі практично не змінилася. Це свідчить, що рослини, фотосинтез яких пригнічувався посухою, були гірше забезпечені асимілятами, але у рослин сорту Фаворитка завдяки підтриманню асиміляційної активності на вищому рівні негативний ефект був виражений значно слабше, ніж у Миронівської 808.

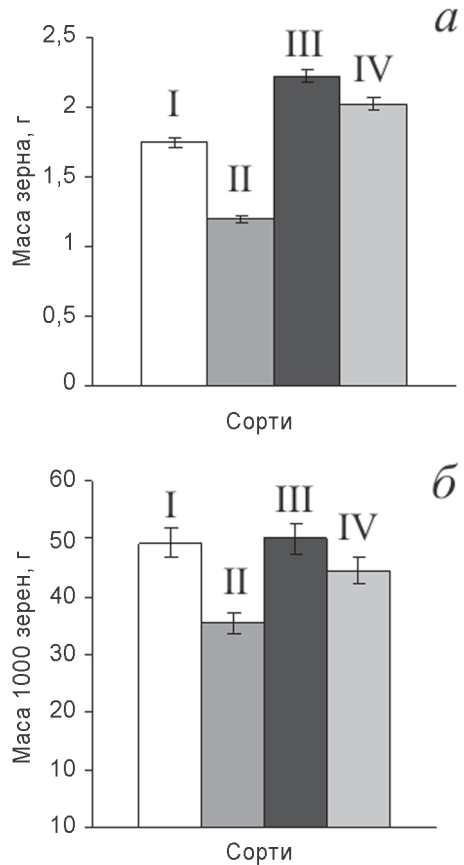


Рис. 2. Зернова продуктивність головного пагона рослин озимої пшениці різних сортів, підданих 9-добовій посузі у період колосіння – цвітіння. а – маса зерна; б – маса 1000 зерен (I – Миронівська 808, контроль; II – Миронівська 808, дослід; III – Фаворитка, контроль; IV – Фаворитка, дослід)

Висновки

Таким чином, рослини нового високопродуктивного сорту Фаворитка за оптимальних умов вологозабезпечення мали вищий вміст суми хлорофілів та більшу інтенсивність CO_2 -газообміну порівняно із сортом старої селекції Миронівська 808. За умов ґрунтової посухи листки рослин сорту Фаворитка втрачали менше води та підтримували концентрацію хлорофілу й

інтенсивність фотосинтезу на вищому рівні, ніж Миронівської 808. Відновлення цих показників після поновлення поливу відбувалося швидше у рослин сорту Фаворитка. Можна припустити, що зазначена перевага нового сорту в асиміляційній діяльності за стресових умов над старим та швидше її відновлення обумовлені кращим функціонуванням захисних систем фотосинтетичного апарату – фотодихання та антиоксидантних ферментів хлоропластів. У кінцевому підсумку це забезпечило повнішу реалізацію потенціалу зернової продуктивності рослин сорту Фаворитка порівняно із сортом Миронівська 808.

Перелік літератури

1. *Моргун В.В., Киризія Д.А., Шадчина Т.М.* Екофізіологічні та генетичні аспекти адаптації культурних рослин до глобальних змін клімату // *Фізіологія і біохімія культ. рослин*. – 2010. – Т. 42, № 1. – С. 3–22.
2. *Стасик О.О.* Реакція фотосинтетичного апарату C₃-рослин на водний дефіцит // *Фізіологія і біохімія культ. рослин*. – 2007. – Т. 39, № 1. – С. 14–27.
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 // *Фізіологія і біохімія культ. рослин*. – 2004. – Т. 36, № 1. – С. 3–14.
4. *Asada K.* Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions // *Plant Physiol.* – 2006 – Vol. 141, № 2. – P. 391–396.
5. *Foyer C.H., Noctor G.* Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling // *New Phytol.* – 2000. – Vol. 146. – P. 359–388.
6. *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*. – Київ: Фітосоціоцентр, 2006. – С. 100–130.
7. *Трач В.В., Стороженко В.А.* Супероксиддисмутаза як компонент антиоксидантної системи рослин при абиотических стрессових впливах // *Фізіологія і біохімія культ. рослин*. – 2007. – Т. 39, № 4. – С. 291–302.
8. *Selote D.S., Khanna-Chopra R.* Drought acclimation confers oxidative stress tolerance by inducing co-ordinated antioxidant defence at cellular and subcellular level in leaves of wheat seedlings // *Physiol. Plant.* – 2006. – Vol. 127. – P. 494–506.
9. *Применение физиологии растений* в селекции пшеницы / Под. ред В.В. Моргун. – К.: Логос, 2007. – 492 с.
10. *Моргун В.В., Швартау В.В., Кірізія Д.А.* Фізіологічні основи отримання високих врожаїв пшениці // *Фізіологія і біохімія культ. рослин*. – 2008. – Т. 40, № 6. – С. 463–479.
11. *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: Би., 1985. – 20 с.
12. *Фотосинтез и биопродуктивность: методы определения* / Под ред. Мокроносова А.Т., Ковалева А.Г. – М.: Агропромиздат, 1989. – 460 с.
13. *Giannopolitis C.N., Ries S.K.* Superoxide dismutase. Occurrence in higher plants // *Plant Physiol.* – 1977. – Vol. 59, № 2. – P. 309 – 314.
14. *Chen G.-X., Asada K.* Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence of two isozymes and the differences in their and molecular properties // *Plant Cell Physiol.* – 1989. – Vol. 30, № 7. – P. 987 – 998.
15. *Arnon D.I.* Copper enzyme in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* // *Plant Physiol.* – 1949. – Vol. 24, № 1. – P. 1 – 15.
16. *Wilkinson S., Davis W.J.* ABA-based chemical signaling: the coordination of responses to stress in plants // *Plant Cell Environ.* – 2002. – Vol. 25, № 2. – P. 439 – 449.
17. *Стасик О.О.* Фотодихання та його фізіологічне значення // *Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку*. – Київ: Логос, 2009. – Т. 1. – С. 170–199.
18. *Wingler A., Lea P.J., Quick W.P., Leegod R.C.* Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection // *Phil. Trans. Roy. Soc. London B.* – 2000. – Vol. 355, № 5. – P. 1517–1529.

Представлено О.В. Дубровою
Надійшла 13.08.2011

СОРТОВЫЕ ОТЛИЧИЯ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ
В РЕАКЦИИ НА ЗАСУХУ АНТИОКСИДАНТНЫХ
ФЕРМЕНТОВ И АССИМИЛЯЦИИ CO₂

О.Г. Соколовская-Сергиенко

Институт физиологии растений и генетики НАН
Украины
Украина, 03022, Киев, ул. Васильковская, 31/17
e-mail: monitor@ifrg.kiev.ua

В вегетационном опыте изучали реакцию на почвенную засуху антиоксидантных ферментов хлоропластов и CO₂-газообмен флагового листа у растений современного высокопродуктивного сорта Фаворитка и менее продуктивного сорта старой селекции Мироновская 808 в период колосения – цветения. Растения сорта Фаворитка как при оптимальном влагообеспечении, так и в условиях засухи характеризовались более высоким содержанием хлорофилла и большей интенсивностью ассимиляции CO₂, чем сорта Мироновская 808. Показано, что большая устойчивость фотосинтетического аппарата к почвенной засухе у растений сорта Фаворитка связана с более высокими активностью антиоксидантных ферментов хлоропластов и интенсивностью фотодыхания. Это обусловило меньшие потери зерновой продуктивности при действии засухи у растений сорта Фаворитка по сравнению с Мироновской 808.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., сорта, фотосинтез, фотодыхание, супероксиддисмутаза, аскорбатпероксидаза, продуктивность, почвенная засуха.

VARIETAL DIVERSITY OF WINTER WHEAT
IN ANTIOXIDANT ENZYMES AND CO₂
ASSIMILATION RESPONSE TO DROUGHT

O.G. Sokolovska-Sergiienko

Institute of Plant Physiology and Genetics NAS of
Ukraine
Ukraine, 03022, Kyiv, Vasilkivska St., 31/17
e-mail: monitor@ifrg.kiev.ua

The response of chloroplast antioxidant enzymes and CO₂ gas exchange to soil drought in flag leaf of new highly productive variety Favorytka plants and less productive old variety Myronivska 808 at earing – flowering stage was investigated in pot experiment. The plants of Favorytka variety both with optimal water supply and under drought showed higher chlorophyll content and assimilation rate, than those of Myronivska 808. Higher resistance of photosynthetic apparatus to soil drought in Favorytka plants was shown to be related with higher chloroplast antioxidant enzyme activities and photorespiration rate. This resulted in lesser grain productivity losses under drought in Favorytka plants as compared with those of Myronivska 808.

Key words: *Triticum aestivum* L., varieties, photosynthesis, photorespiration, superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, productivity, soil drought.