

Эффекты пониженной температуры на про-/антиоксидантный метаболизм и активность фотосинтетического аппарата листьев *Zea mays*

**Силина Е. В.^A, Малышев Р. В.^A, Шелякин М. А.^A,
Табаленкова Г. Н.^A, Головки Т. К.^{A*}**

^A *Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, г.Сыктывкар, Россия,*

**E-mail: golovko@ib.komisc.ru*

Кукуруза – ценная сельскохозяйственная культура субтропического происхождения с С4 типом фотосинтеза. Оптимальными для ее роста и развития являются температура 25-28 °С. Известно, что низкие положительные температуры индуцируют развитие окислительного стресса, ограничивают процессы жизнедеятельности и продуктивность теплолюбивых растений. В последнее время благодаря селекции, расширился спектр раннеспелых и более устойчивых к холодовому воздействию сортов и гибридов кукурузы, что благоприятствует использованию данной культуры в растениеводстве северных регионов для выращивания на корм. По имеющимся данным в центральном агроклиматическом районе Республики Коми урожайность зеленой массы кукурузы варьирует от 200 до 700 ц/га [1, 2]. Столь значительный размах обусловлен погодными условиями сезона вегетации и, в первую очередь, недостатком тепла в отдельные периоды [3]. Нами отмечены низкие темпы роста и накопления биомассы растений после появления всходов, особенно на фоне довольно частых понижений ночной температуры [2, 3]. Это послужило основанием для более детального изучения последствий пониженной температуры на про-/антиоксидантный метаболизм и функциональную активность листьев молодых растений кукурузы.

Объект и методы исследования. Раннеспелый простой гибрид кукурузы Уральский 150 создан для использования в регионах с ограниченным вегетационным периодом. Растения выращивали в сосудах с почвой под светодиодными лампами ULI-P10-18W/SPFR IP40 (Китай). Плотность потока ФАР составляла 400 мкмоль/м²с, дневная температура 25-27 °С, ночная около 23 °С, фотопериод 12/12 ч. В фазу появления третьего настоящего листа часть растений в течение недели каждые сутки помещали на ночь в холодную камеру (температура 6 °С), утром растения возвращали в исходные условия. Растения для анализа отбирали в утренние часы сразу после экспозиции в холодной камере на четвертые и восьмые сутки от начала низкотемпературного воздействия и через трое суток после его прекращения. Контрольные растения действию пониженной температуры не подвергали.

Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по накоплению продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-РП), содержание пероксида водорода (H_2O_2) с помощью хемилюминесцентного метода. Общую активность супероксиддисмутазы (SOD) определяли по способности фермента подавлять фотохимическое восстановление нитросинего тетразолия. Активность аскорбатпероксидазы (APX) определяли по методу, основанному на регистрации оптической плотности раствора при окислении аскорбата. Активность каталазы (CAT) измеряли по количеству разложившегося H_2O_2 за единицу времени. Содержание растворимого белка анализировали по Bradford (1976). Процедуры выделения белка проводили при температуре 4 °C. Показатели флуоресценции хлорофилла *a* ФС2 измеряли с помощью портативного флуориметра РАМ-2100 (Walz, Германия), скорость CO_2 -газообмена с помощью ИК-газоанализатора Li-7000 (Licor Inc., США). Скорость дыхания измеряли по поглощению O_2 полярографически на Oxytherm system (Hansatech Inst., Англия). Активность терминальных оксидаз оценивали с помощью специфических ингибиторов. Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программы Statistica 10 (StatSoft Inc., США).

Результаты. Установлено, что содержание продуктов ПОЛ, H_2O_2 и активность ключевых антиоксидантных ферментов в листьях контрольных растений оставались практически стабильными в течение эксперимента. Характер изменения величин этих показателей у листьев опытных растений указывает на то, что охлаждение индуцировало развитие окислительного стресса (рис. 1).

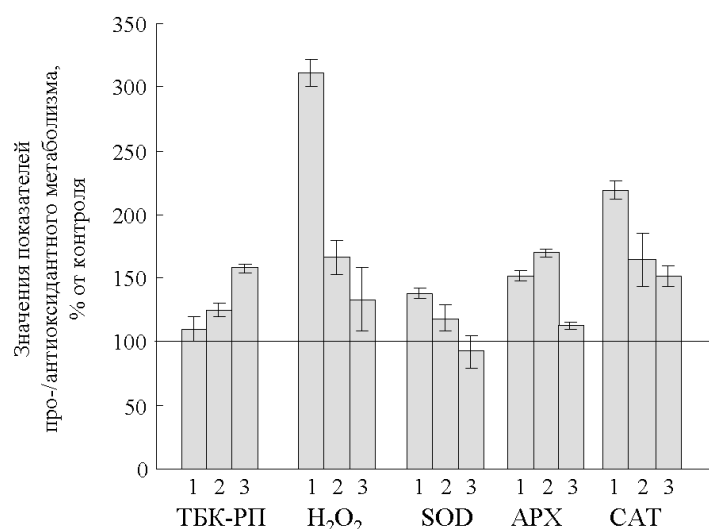


Рис. 1. Влияние низкой положительной температуры (6 °C) в ночные часы на показатели про-/антиоксидантного метаболизма листьев кукурузы сорт Уральский 150 (в % от контроля): 1, 2 – опытные растения после 3 и 7 ночных экспозиций при 6 °C соответственно, 3 – спустя 3 суток после прекращения низкотемпературного воздействия. Линией обозначен контроль

После трех холодных ночей отмечали существенное, в 3 раза по сравнению с контролем, накопление H_2O_2 , тогда как содержание ТБК-РП изменялось незначительно. На фоне накопления H_2O_2 возрастала активность ферментов, нейтрализующих его. Уровень активности APX повышался в 1.5 раза, тогда как САТ более чем в 2 раза. Активность SOD, контролирующей концентрацию супероксид-радикала ($\text{O}_2^{\bullet-}$) путем его дисмутации до молекулярного кислорода и H_2O_2 , возрастала примерно в 1.4 раза. На седьмые сутки эксперимента содержание H_2O_2 значительно снижалось. Изменения в содержании концентрации H_2O_2 в клетке имеет большое значение, так как его молекулы участвуют в передаче сигнала в качестве вторичного мессенджера. Их накопление индуцирует значительные изменения в клеточном метаболизме, что может свидетельствовать об экспрессии чувствительных к холодовому стрессу генов [4]. Интересно, что спустя трое суток после прекращения холодового воздействия, уровень активности про-/антиоксидантного метаболизма не достиг контрольных значений. Листья опытных растений содержали в 1.2 раза больше H_2O_2 и в 1.5 раза больше продуктов липопероксидации. Сравнительно высоким оставался уровень активности САТ, тогда как различия в активности SOD и APX были незначительными. Таким образом, вовлечение антиоксидантной системы способствовало развитию адаптивных реакций растений кукурузы к действию низкотемпературного воздействия.

Исследования функционального состояния фотосинтетического аппарата растений не выявили существенных сдвигов в фотохимической эффективности ФС2 при сравнении контрольных и опытных растений. Величины максимального (F_v/F_m) и реального квантового выхода (Φ_{PSII}) флуоресценции хлорофилла *a* листьев контрольных и опытных растений, измеренные при одной и той же температуре (25 или 6 °C), значимо не отличались. Стабильность величины показателя F_v/F_m свидетельствует о сохранности фотосинтетического аппарата после холодового воздействия. В то же время, и у контрольных, и опытных растений отмечали достоверное повышение (в среднем в 1.3 раза) показателя нефотохимического тушения (q_N) и понижение в 7-8 раз показателя Φ_{PSII} при сравнении результатов измерений при 25 °C и 6 °C. Эти данные указывают на снижение эффективности использования энергии на фотосинтез при низкой положительной температуре у листьев молодых растений кукурузы. Результаты изучения показателей флуоресценции хлорофилла *a* ФС2 согласуются с данными прямых определений скорости видимого фотосинтеза (P_n). При температуре 6 °C величина P_n листьев контрольных и опытных растений была соответственно в 5 и 10 раз ниже, чем при 25 °C. Скорее всего, это обусловлено чувствительностью ферментов углеродного метаболизма листьев кукурузы к низкой температуре.

Нами выявлено, что подавление дыхательной активности листьев кукурузы низкой температурой в большей степени было связано с торможением цитохромного пути (ЦП), чем энергетически малоэффективного альтернативного дыхательного пути (АП). При этом листья опытных растений проявляли более высокую толерантность ЦП к снижению температуры по сравнению с листьями контрольных растений, не испытывающих ночного охлаждения. В результате вклад дыхательных путей в общее поглощение O_2 и соотношение ЦП/АП при пониженной температуре у листьев опытных растений изменялись в меньшей степени, чем у контрольных. Эти данные могут отражать способность кукурузы к акклимации.

Заключение. Нами установлены закономерности влияния низкотемпературного воздействия на функциональные показатели листьев ранне-спелого гибрида кукурузы Уральский 150 на начальных этапах роста и развития. Индукция активности ключевых ферментов антиоксидантной защиты SOD, APX и CAT на фоне значительного увеличения содержания пероксида водорода отражают адаптацию растений к низкотемпературному стрессу. Накопление H_2O_2 , по-видимому, приводило к активации стресс-индуцируемых генов, способствующих акклимации и предотвращению холодового повреждения. Об этом может свидетельствовать тот факт, что опытные растения проявляли более высокую толерантность цитохромного дыхания к снижению температуры, сохраняли сравнительно высокую потенциальную фотохимическую эффективность фотосистемы 2 и мало отличались от контрольных по накоплению биомассы.

Работа выполнена по теме НИР № 122040600021-4 за счет средств федерального бюджета.

Библиографические ссылки

1. Вавилов П.П., Болотова Е.С. Некоторые особенности роста и развития кукурузы в северных районах ее возделывания // Тр. Коми филиала АН СССР, 1961. №11. С.57-69.
2. Головкин Т.К., Далькэ И.В., Шморгунов Г.Т., Триандофилов А.Ф., Тулинов А.Г. Рост растений и продуктивность кукурузы в холодном климате // Российская сельскохозяйственная наука, 2019. № 2. С.19-23. DOI: 10.31857/S2500-26272019219-24
3. Табаленкова Г.Н., Силина Е.В., Дымова О.В., Далькэ И.В., Головкин Т.К. Формирование урожая и качество зеленой массы кукурузы в условиях центрального агроклиматического района Республики Коми // Аграрная наука Евро-Северо-Востока, 2021. Т. 22, № 5. С. 689-697. DOI: 10.30766/2072-9081.2021.22.5.689-697
4. Zhou X., Muhammad I., Lan H., Xia C. Recent Advances in the Analysis of Cold Tolerance in Maize // Front. Plant Sci., 2022. Vol.13: 866034. DOI: 10.3389/fpls.2022.866034