

3. Botnari V. Starea actuală și perspectiva de revitalizare a legumiculturii. // Lucrări științifice Univ. Agrară de Stat din Moldova. Volumul 16: Horticultură, viticultură și protecția plantelor, 2008, p.161-164.
4. Botnari V. Revitalizarea legumiculturii – necesitate stringentă. // Agricultura Moldovei. 2008, nr.9.p.28-30.
5. Ботнаръ В.Ф. Совершенствование методов выработки агротехнических решений. // Защита растений. 2004, №5, с.20.
6. Виленский П.Л., Лившец В.Н., Смоляк С.А. Методические рекомендации по оценке инвестиционных проектов. // М.: Экономика, 2000, 421 с.
7. Леунов И.И. Система земледелия или технология растениеводства. // Вестн. с.-х. науки, 1992, №2. с.40-42.
8. Мальцев В.Ф. Новые подходы для разработки технологий возделывания сельскохозяйственных культур // Вестн. с.-х. науки, 1991, №8. с.25
9. Патрон П.И. Комплексное действие агроприемов в овощеводстве. // Кишинев: Картя Молдовеняскэ, 1980, 185 с.
10. Патрон П.И. Интенсивное овощеводство в Молдавии. Кишинев: Картя Молдовеняскэ, 1985, 284 с.

## **ANTRENAREA ENZIMELOR PEROXIDAZICE ÎN PROTECȚIA ANTIOXIDATIVĂ A PLANTELOR ÎN CONDIȚII DE SECETĂ**

**Ștefiriță Anastasia, Aluchi N., Melenciuc M., Buceaceaia Svetlana**

*Institutul de Genetică și Fiziologie a Plantelor al Academiei de Științe a Moldovei*

### **Introducere**

Stresul abiotic, cum ar fi clima nefavorabilă, poluarea mediului, etc., limitează considerabil productivitatea plantelor. După cum se știe, seceta are un impact detrimental asupra plantelor mult mai puternic comparativ cu efectul altor stresori abiotici [4;5]. Reducerea gradului de hidratare a țesuturilor, cauzată de insuficiența apei, induce supraproducția speciilor reactive de oxigen (SRO) și apariția stresului oxidativ (SO), care amplifică afectările celulare drept urmare a intensificării oxidării peroxidice a lipidelor (OPL) și perturbării structurii membranelor, degradării proteinelor și acizilor nucleici [1;14;17 - 20]. Unul din mecanismele rezistenței la SO este activizarea sistemului antioxidant, care modulează concentrația SRO menținându-le în condiții normale la un nivel stabil, evitându-se în așa mod potențialul lor de cito toxicitate [8]. Un rol deosebit în neutralizarea peroxidului de hidrogen și hidroperoxidilor revine peroxidazelor (PX): ascorbatperoxidazei (APX), glutationperoxidazei (GPX) și gwaiacolperoxidazei (GwPX). Peroxidazele plantelor sunt implicate în numeroase procese celulare în timpul dezvoltării sau reacției plantelor la stres. APX, GPX și glutationreductaza (GR) convertează peroxidul de hidrogen și hidroperoxidii, formați în SO, în H<sub>2</sub>O în ciclul „ascorbat - glutation”. GwPX participă în procesul complex de

*Abrevieri: SRO - specii reactive de oxigen; SO - stres oxidativ; OPL - oxidarea peroxidică a lipidelor; APX - ascorbatperoxidaza; GPX - glutationperoxidaza; GwPX - gwaiacolperoxidaza; GR - glutationreductaza; SOD -superoxid dismutaza; CAT -catalaza; GSSG – glutation oxidat; GSH – glutation redus;*

sinteză a ligninei, utilizând  $H_2O_2$  pentru oxidarea fenolilor, radicalii cărora participă apoi în sinteza ligninei. Totodată, radicalii fenolici în apoplast pot fi reduși de către acidul ascorbic. În așa caz segmentul "fenoli – peroxidaza – ascorbat" reprezintă un component al sistemului de lichidare a peroxidului și funcționează fără acumularea radicalilor fenolici periculoși [2;13]. Totodată se știe, că seceta provoacă stoparea creșterii și grăbește senescența țesuturilor, ceea ce la mezofitele de cultură poate fi asociată, pe de o parte cu reducerea pierderilor de apă, pe de alta - cu micșorarea productivității. Altfel fiind spus, acele particularități de adaptare - în care sunt implicate PX, și care asigură supraviețuirea în condiții de secetă a plantelor din flora spontană prin economisirea apei datorită reducerii suprafeței de evaporare, la plantele de cultură au consecințe negative asupra productivității, ca urmare a scăderii suprafeței de asimilare.

Cu toate că în ultimul timp cercetările subordonate cunoașterii mecanismelor de protecție a celulelor de la atacul SRO au marcat mari succese [9], totuși până în prezent nu sunt clare mecanismele prin care unele cultivare (soiuri, hibrizi) depășesc impactul secetei fără prea mari urmări, iar altele nu.

În acest context *scopul* studiului prezent consta în evaluarea premisei de implicare a enzimelor peroxidazice în inducerea unor mecanisme de protecție cu tangențe la autoreglarea status-ului apei plantelor în condiții de secetă.

La inițierea investigațiilor curente s-a **presupus**, că *mecanismul de protecție antioxidativă realizat de PX în condiții de secetă nu numai că neutralizează acțiunea periculoasă a peroxidului de hidrogen asupra componentelor celulare, dar și induce frânarea proceselor de creștere prin lignificarea pereților celulari, cu repercusiune asupra suprafeței de evaporare, consum al apei și productivității plantelor.*

### Materiale și metode

În calitate de obiecte de studiu au servit plantule și plante de *Zea mays* L., cultivarele (cv.) LG 2305 și X5P515 cu potențial diferit de rezistență la secetă. Experiențele s-au efectuat în condiții de umiditate controlată în Complexul de vegetație al IGFP. Investigațiile s-au realizat pe parcursul ontogenezei pe plante crescute în containere Mitcerlih cu capacitatea 30 kg sol absolut uscat.

*Schema experiențelor* de vegetație prevedea variantele: a) martor, plante crescute pe fond permanent de umiditate 70% CTA; b) plante pe fond de fluctuație a umidității în diapazon 70-60-50-40-30<sub>1zi</sub>-30<sub>3zile</sub>-30<sub>5zile</sub>-30<sub>7zile</sub>-30<sub>10zile</sub>, după care au fost trecute în condiții de umiditate optimă - 70 % CTA. În lucrarea de față datele despre parametrii status-ului apei, catalazei (CAT), ascorbatperoxidazei (AscPOX), și guaiacolperoxidazei (GwPOX) în frunze au fost prezentate ca media a 5 reproducții ± eroarea standard. Activitatea SOD s-a determinat prin inhibarea reducerii fotochimice a nitroblu tetrazoliului. Mediul de incubare conținea K - Na - fosfat-tampon (60mM, pH 7,8), metionin (13mM), riboflavin (2μM), nitroblu tetrazoliu (63μM), EDTA (0,1mM) și 100μl de extract. Durata reacției - 10 min. la intensitatea luminii lămpilor cu fluorescență 15W. În calitate de control serveau mostrele incubate la întuneric. Ca unitate convențională de activitate a SOD a fost considerată activitatea fermentului ce inhibă 50% din fotoreducerea nitroblutetrazoliului. Activitatea CAT s-a estimat prin metoda Chance B. și Machly A. prin determinarea spectrofotometrică la  $\lambda$  240 nm a

descompunerii  $H_2O_2$ ; GwPOX - după intensitatea oxidării guaiacol (2 – metoxi – fenol) ca donator de hidrogen în prezența  $H_2O_2$ ,  $\lambda$  470 nm; AscPOX – prin monitorizarea ratei de oxidare a ascorbatului la  $\lambda$  290 nm. Activitatea fermenților antioxidativi se exprima în mM de substrat oxidat și se aprecia în procente față de activitatea fermenților din frunzele plantelor martor. Despre caracterul reacției sistemului enzimatic antioxidant s-a judecat nu numai după valoarea parametrului, dar și prin compararea amplitudinii modificărilor la plantele martor și cele supuse stresului hidric. Parametrii status-ului apei s-au determinat prin metode clasice; intensitatea OPL s-a testat prin determinarea spectrofotometrică a produsului final – dialdehidei malonice (DAM), utilizând testul cu acidul tiobarbituric. Metodele de cercetare sunt expuse detaliat în lucrările [18-20]. Indicile de stres sau viteza evoluării stării de stres, a fost calculat conform [3], utilizând ecuația:  $I_{st} = (P_{opt} - P_{ins}) : D$ , unde  $I_{st}$  reprezintă indicile de stres, acțiunea netă a factorului raportată la durata stresului;  $P_{opt} - P_{ins}$  – valoarea parametrilor funcționali în condiții de umiditate optimală și insuficiență de apă, acțiunea netă a factorului;  $D$  – durata stresului hidric, zile. Analiza statistică a datelor - cu ajutorul setului de programe „Statistica7” pentru computer, utilizând Basic Statistics.

### Rezultate și discuții

Oxidarea peroxidică a lipidelor (OPL), indusă de deshidratarea țesuturilor în condiții de secetă, este asociată, la primele etape, cu majorarea activității enzimelor sistemului antioxidant (tab.1; fig.1), asociată după părerea multor autori [11;12] cu formarea și realizarea potențialului de rezistență a organismului vegetal la diferiți factori nefavorabili.

Superoxid dismutaza (SOD) reprezintă prima linie de protecție antioxidantă și convertează superoxizii agresivi și oxigenul singlet în peroxid de hidrogen ( $H_2O_2$ ), mai puțin agresiv [1].  $H_2O_2$ , în dependență de concentrație, posedă acțiune ambiguă asupra activității funcționale a celulelor. În concentrații milimolare induce ruperea lanțului acidului dezoxiribonucleic, oxidarea peroxidică a lipidelor, diminuarea intensității glicolizei și perturbații morfologice a membranelor plasmactice, condiționând moartea celulelor prin mecanismele apoptozei sau necrozei [7]. În concentrații mici  $H_2O_2$  este un mesager secundar, participă în transmiterea semnalului, inițiază fosforilarea proteinelor, activează factorii de transcripție, influențând astfel proprietățile funcționale ale celulelor [16].

Din datele prezentate în tabelul 1 și figura 1 se vede, că oxidarea peroxidică a lipidelor, condiționată de secetă, induce activizarea SOD cu 12,8 % la cv. tolerant și cu 28,4 la sută – în frunzele plantelor sensibile. Necătând la activitatea constitutivă și indusă înaltă a SOD, în frunzele genotipului sensibil conținutul DAM se păstrează mărit, ceea ce permite de presupus, că activizarea enzimei nu este destul de suficientă pentru a dismuta superoxid radicalii și de a proteja membranele de la OPL. Aceasta reiese din comparația activității SOD și valoarea medie a conținutului DAM (tab. 1, fig.1). Peroxidul de hidrogen, format la acțiunea SOD, este neutralizat mai apoi în peroxisomi de către CAT. Detoxifierea  $H_2O_2$  este realizată și în reacțiile ciclului ascorbat - glutation cu participarea APX, GPX, GR. În acest aspect prezenta interes determinarea coraportului activității SOD relatată la activitatea CAT, pe de o parte, și SOD comparativ cu activitatea ascorbatperoxidazei, pe de altă parte.

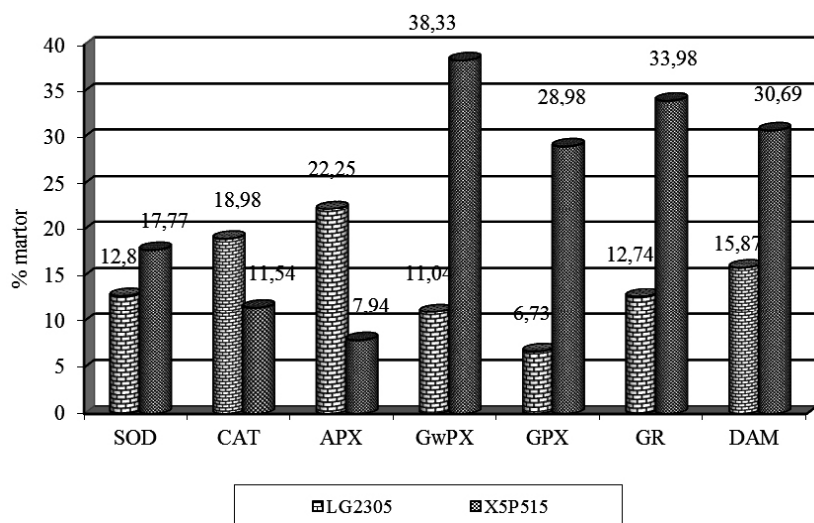
**Tabelul 1. Efectul secetei asupra activității sistemului enzimatic de protecție antioxidantă în frunzele plantelor de *Zea mays* L cu diferit potențial de rezistență**

Cultivar	Variante	SOD, un.conv.	CAT, mM·g <sup>-1</sup> m.p· min <sup>-1</sup>	APX, mM·g <sup>-1</sup> m.p	GwPX, mM·g <sup>-1</sup> m.p	GPX, mM·g <sup>-1</sup> m.p	GR, mM·g <sup>-1</sup> m.p	DAM, mkM,g m.p.
LG2305	Optim	40,1 ± 1,2	3,9 ± 0,2	25,4 ± 0,2	40,5 ± 1,4	121,4±1,2	132,3±2,3	18,9±0,3
	Secetă	45,2 ± 1,1	4,7 ± 0,1	31,0 ± 0,2	45,0 ± 1,7	129,6±1,2	149,2±2,1	21,9±0,3
X5P515	Optim	51,9 ± 2,5	3,7 ± 0,2	29,7 ± 0,3	45,6 ± 1,6	104,5±0,8	122,5±2,5	18,9±0,2
	Secetă	60,9 ± 1,3	4,1 ± 0,1	32,1 ± 0,4	65,2 ± 0,8	138,2±1,1	164,3±2,0	24,7±0,3

Datele au demonstrat, că în condiții de secetă raportul SOD / CAT la genotipul LG2305 constituie 0,62, iar la genotipul X5P515 – 1,62. În raport cu activizarea APX s-a înregistrat o atare cartină: SOD / APX la cv. LG2305 constituie 0,57; la X5P515 - 2,18. Deci, la plantele sensibile la secetă activizarea SOD este evident mai accentuată decât activizarea CAT și APX - enzimele cheie responsabile de neutralizarea peroxidului în condiții de stres. Spre deosebire de alți radicali liberi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, datorită permeabilității înalte a membranelor și duratei relativ mare de „viață”, acționează nu numai asupra celulelor - producătoare, dar și asupra celor din vecinătate. De menționat, că în frunzele cv. rezistent la secetă activitatea CAT și APX se menține la un nivel semnificativ mai înalt comparativ cu activitatea acestor enzime în frunzele cv. sensibil.

Este pe larg acceptată opinia cum că plantele cu un nivel înalt de activitate a sistemelor antioxidative constitutive și inducibile se deosebesc prin rezistență mare la stresul oxidativ. Dar, decalajul dintre gradul semnificativ de activizare a SOD și sporirea neînsemnată a activității CAT, și chiar inhibarea acesteia [17], precum și a APX – enzime responsabile de neutralizarea H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> în condiții de stres, atestă apariția unui SO mai puternic în frunzele cv. X5P515 (tabl.1). Aceste date confirmă informația despre faptul, că la genotipurile sensibile la un stres hidric moderat ( $\Psi_w = -1,3\text{MPa}$ ) are loc o activizare înaltă a SOD și o reducere considerabilă a activității CAT pe fond de majorare a OPL și proteinelor [4;6]. În frunzele plantelor supuse acțiunii secetei s-a înregistrat o intensificare a activității PX care utilizează ca substrat fenolii – GwPX și glutationul - GPX și GR (tab. 1, fig.1).

Producerea excesivă a SRO cauzează distrucția peroxidativă nu numai a lipidelor, dar și proteinelor membranare. Acționând asupra radicalilor histidinei și aminoacizilor din moleculele proteinelor, hidroperoxidii (HO; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) provoacă denaturarea și inactivarea acestora. Oxidarea grupelor tiol a proteinelor cauzează apariția defectelor în stratul lipidic al membranelor celulare și mitocondriilor și perforarea lor. Prin porii formați în celule pătrund ionii de Na<sup>+</sup>, iar în mitocondrii – ionii de K<sup>+</sup>. În rezultat se mărește presiunea osmotică în interior, are loc distrucția celulelor și mitocondriilor prin gonflare.



**Fig.1. Gradul de modificare a activității enzimelor sistemului antioxidant în frunzele plantelor de *Zea mays L* sub influența secetei.**

Ca reacțiune la oxidarea peroxidică a proteinelor este activarea GR (EC 1.6.4.2), enzimă care restabilește echilibrul dintre glutatioul oxidat (GSSG) și cel redus (GSH) [11;24]. În condiții normale status-ul GSH – GSSG este puternic deplasat spre forma redusă. Rolul-cheie al GSH constă în menținerea grupelor SH- ale proteinelor intracelulare în stare oxidată și, deci în stare activă [11]. Se consideră că transformările reciproce „ditiol – disulfid” în celule este unul din mecanismele de adaptare a plantelor la SO. Raportul GSH/GSSG este foarte important pentru homeostaza celulelor și atestă capacitatea plantei de a contracara SO [11]. Schimbarea coraportului „ditiol – disulfid” se răsfrânge și asupra transportului apei prin plasmalemă, deoarece în acest proces sunt implicate grupele SH- ale aquaporinelor, ce funcționează ca canale pentru apă [23]. Autorii au stabilit, că aquaporinele posedă sensibilitate la schimbarea concentrației grupelor tiol reduse și oxidate, ceea ce indirect confirmă implicarea GR în reglarea activității canalelor pentru apă. Nemijlocit în detoxicarea directă a peroxidului de hidrogen participă și GPX, care catalizează reacția de oxidare a glutatioului redus (GSH) la interacțiunea cu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sau cu un alt peroxid organic. În rezultatul reacției se formează apă (sau apă și alcool) și dimerul glutatioului oxidat (GSSG). Forma oxidată a glutatioului (GSSG) este redusă de GR cu utilizarea NADPH [8].

Rezultatele obținute în studiul dat (fig.1 și 2) demonstrează, că GPX și GR sunt implicate în răspunsul plantelor la acțiunea secetei. În frunzele genotipului tolerant activitatea constitutivă a acestor două enzime este mai mare comparativ cu cv. intolerant. De menționat, că la reprezentanții cv.X5P515 seceta condiționează o majorare mai semnificativă a activității GPX și GR precum și a ratei de activitate a componentelor sistemului enzimatic de protecție antioxidantă. Probabil, gradul înalt de modificare a activității induse ale acestor enzime este determinat nu atât de rezistența plantelor cât de necesitatea de neutralizare a hidroperoxidilor și reducere a atacului asupra lipidelor și proteinelor membranare. În țesuturile plantelor tolerante, datorită proprietății lor de

homeostatare a apei și de menținere a hidratării țesuturilor, sunt mai puțin afectate deoarece se formează cantități mai mici de SRO și, prin consecință, activizarea enzimelor peroxidazice este corespunzător mai puțin necesară. Se consideră [24], că majorarea activității GR are loc la progresarea proceselor oxidative în celulele plantelor în cele mai diferite condiții de stres [22]. Majorarea activității GR a fost înregistrată în rădăcinile plantelor de orez ca răspuns la acțiunea NaCl [21] precum și la prelucrarea plantelor de mazăre cu cadmiu în diferite concentrații. Multitudinea de GPX este modificată de condițiile nefavorabile ale mediului, în general se majorează sub influența deficitului de apă, metalelor grele, fungilor și descrește în situații de stres fotooxidativ [10]. Prin aceasta autorii demonstrează că GPX sunt implicate în răspunsul plantelor la acțiunea condițiilor stresogene atât condiționate de factorii abiotici cât și biotici. Datele din literatură și cele obținute în studiul dat permit de presupus, că diferite condiții stresogene pot condiționa în plante procese asemănătoare.

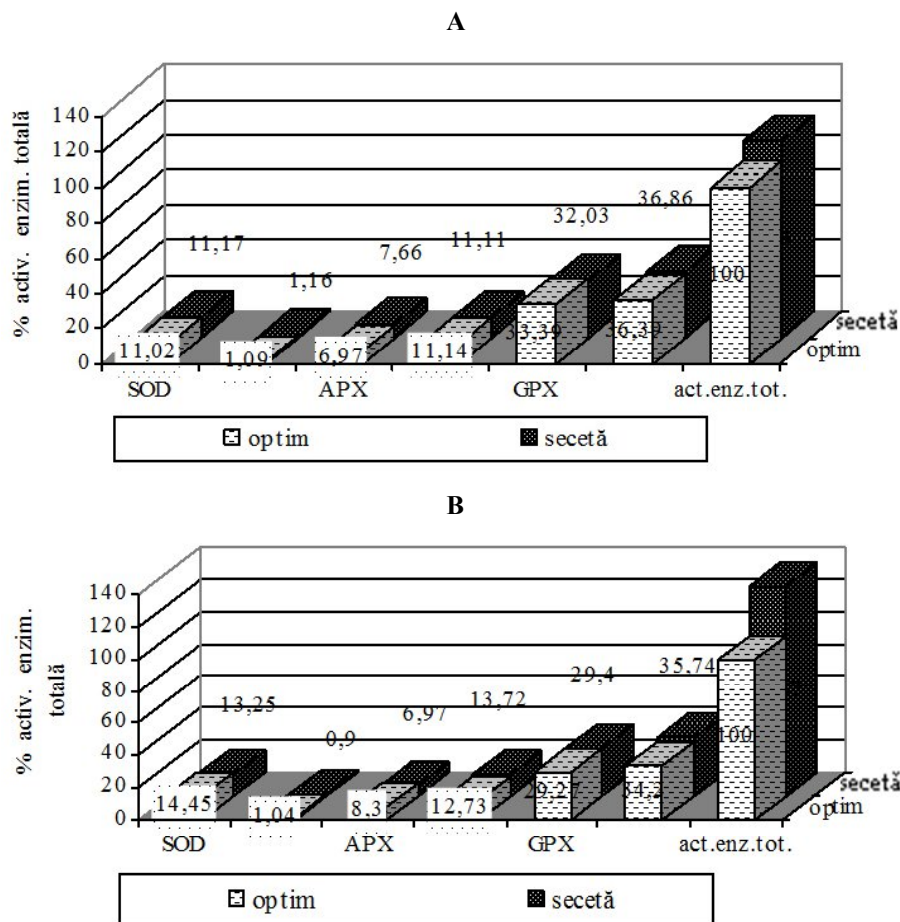
Analiza coraportului activității enzimelor antioxidative din frunzele plantelor martor și celor expuse stresului hidric a demonstrat o modificare veridică a ratei de activitate, indusă de deshidratarea țesuturilor (fig.2). În condiții de secetă în frunzele genotipului intolerant descrește rata de activitate a SOD, CAT și APX și se majorează, într-o oarecare măsură, ponderea GwPX, GPX și GR. La plantele tolerante seceta de aceeași intensitate și durată nu provoacă un astfel de dezechilibru (fig.2). Majorarea preponderentă a activității GwPX (fig.1;2) permite de presupus că la plantele intolerante se induc procesele de lignificare a pereților celulari, de blocare a creșterii celulelor frunzelor prin extensie, și micșorarea suprafeței foliare. Respectiv, la genotipul tolerant a avut loc o reducere a suprafeței foliare cu 24,6 și a înălțimii plantelor – cu 21,6%, iar la plantele intolerante cu: 29,2 și 30, 5 respectiv.

Necătând la abundența lucrărilor din ultimul timp referitor la rolul sistemii de protecție antioxidantă în asigurarea rezistenței plantelor în mediu nefavorabil, există un număr mic și sporadic de lucrări în care se urmărește dinamica schimbării activității enzimelor antioxidative atât pe parcursul perioadei de acțiune a factorului de stres, cât și în post acțiunea lui, după ameliorarea condițiilor externe.

Pentru a clarifica din ce cauză în frunzele plantelor intolerante la secetă conținutul marcherului SO – DAM, se păstrează la un nivel înalt necătând la activitatea înaltă (constitutivă și indusă) a enzimelor antioxidative s-a analizat amplitudinea și viteza de activizare a acestora în funcție de intensitatea stresului hidric și oxidativ condiționat de persistarea în timp a secetei. S-a stabilit (fig.3), că atât șarja de stres hidric, cât și cea a SO crește continuu odată cu progresarea în timp a secetei.

Amplitudinea DS începe veridic s-ă crească după scăderea umidității solului la 40 % CTA, atingând valoarea critică în a X-ea zi de secetă. După prima zi de secetă (30%CTA) valoarea DS a frunzelor a crescut față de valoarea DS a plantelor martor cu 11,21%; după 3 zile de secetă – cu 20,94%; după 5 ; 7 și 10 zile – cu: 25,7; 27,3 și 34,31 % respectiv. Analiza datelor prin prisma efectului net al secetei asupra amplitudinii schimbării DAM demonstrează, că marcherul SO începe s-ă se schimbe deja la scăderea umidității solului la 50 %CTA, dar în diapazonul umidității „40 % CTA – 30 % CTA (3 zile) amplitudinea modificării constituie 1,49 – 3,37 mkM · g. m. p. față de valoarea parametrului dat al plantelor martor. În a 5-ea zi de secetă amplitudinea schimbării conținutului DAM brusc crește, constituind o majorare cu 12,65 mkM · g.

m. p., și continuă să se mărească după 7 și 10 zile de secetă: - cu 22,95 și 31,26 mkM · g. m. p. (fig.3; 4).



**Fig.2. Rata de activizare a enzimelor sistemului antioxidant (% din activitatea enzimatică sumară) în frunzele plantelor de *Zea mays* L, cv LG2305 (a) și cv. X5P515 (b) în condiții de umiditate optimă și secetă.**

Aceste date permit de afirmat, că la scăderea umidității de la 40 la – 30 %CTA și persistarea secetei timp de trei zile, activizarea enzimelor antioxidative asigură efectiv neutralizarea SRO și protecția antioxidantivă de la SO, după ce eficacitatea lor scade și sporește intensitatea SO. Valoarea indicelui de stres arată că viteza de tensionare în timp a stării funcționale a plantei este diferită pe parcursul perioadei de secetă. Viteza de majorare a DS este maximă la persistarea secetei de 5 zile, după care relația „doză-efect” într-o măsură oarecare începe să scadă.

Altfel fiind spus, cu toate că valoarea DS crește continuu, viteza de schimbare a acestui parametru diminuează la persistarea în timp a secetei. Reacția de răspuns a plantei la acțiunea SO este ceva deosebită: la începutul perioadei de secetă viteza de majorare a DAM este relativ mică în primele 3-5 zile, dar crește la persistarea în timp a secetei (fig.3).

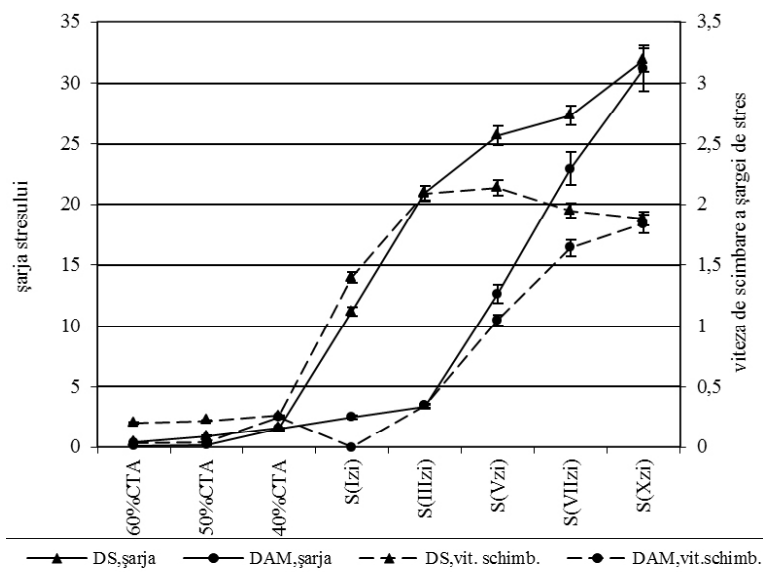


Fig. 3. Amplitudinea și viteza de schimbare a deficitului de saturație și conținutului de aldehidă malonică în frunzele plantelor de *Zea mays* L cv. X5P515 în funcție de evoluarea în timp a secetei.

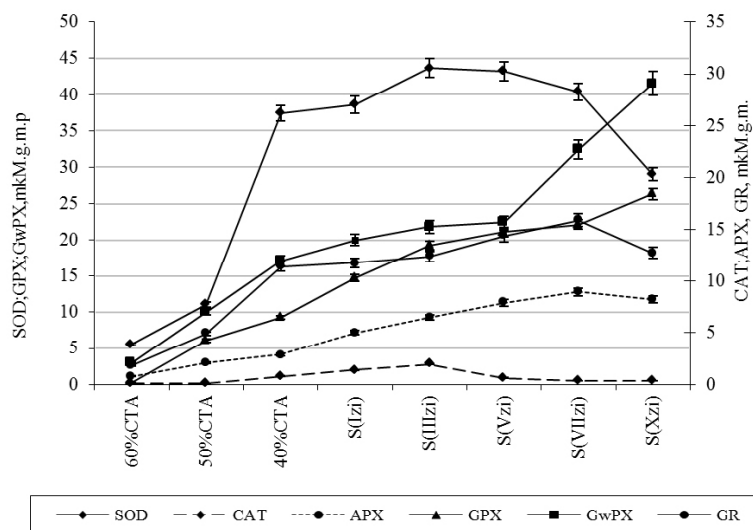


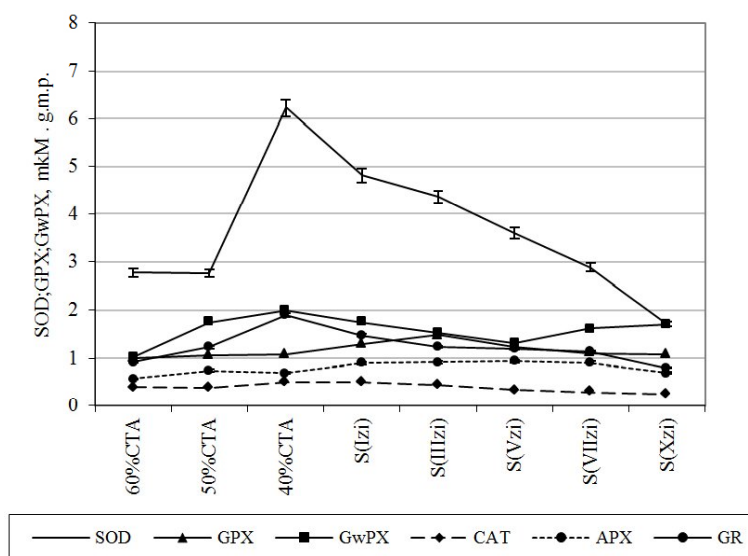
Fig. 4. Amplitudinea schimbării activității enzimelor antioxidative în frunzele plantelor de *Zea mays* L cv. X5P515 în funcție de evoluarea în timp a secetei.

Majorarea amplitudinii și vitezei de modificare a conținutului DAM după 5 - 7 zile de secetă a permis să presupunem, că amplitudinea și viteza de activizare a enzimelor antioxidative nu asigură protecția completă de SO. S-a stabilit că amplitudinea modificării activității celor mai multe enzime antioxidative se majorează până în a 5- a - a 7- ea zi de secetă, după care are loc o reducere veridică a gradului de activizare



a lor (fig.4). Comparativ cu plantele martor, amplitudinea activizării SOD indusă de scăderea umidității solului de la 50 la 40 % CTA crește brusc de la 11,08 la 37,4 un. conv., continuă să se majoreze până la 43,22 un. conv. în a V zi de secetă, după ce începe să se reducă în a VII-a zi, iar în a X-ea zi scade la 29,03 un. conv. Amplitudinea activizării CAT înregistrează o diminuare chiar după 3 zile de secetă. Necătfând la faptul că activitatea APX și GR este mai mare la plantele expuse secetei comparativ cu plantele martor, dar aceasta scade după 7 zile de stres. Din rezultatele prezentate în figura 5 urmează că și viteza de activizare a enzimelor antioxidative se reduce veridic la progresarea în timp a secetei.

Viteza de activizare a SOD scade de la 4,82 un. conv. în prima zi de secetă – la 2,80 și 1,7 un. con. – în a 7-ea și a 10-ea zi de secetă respectiv. Viteza de activizarea a CAT diminuează de la 2,80 mkM.g.m.p. în a III-a zi de secetă – până la 0,88 mkM.g.m.p. în a V-ea zi și continuă să se micșoreze. Reducere veridică a vitezei de activizare s-a înregistrat și pentru GPX și GR. Amplitudinea de activizare a GR a constituit 11,77 mkM · g. m. p. în I zi de secetă; 15,92 mkM · g. m. p. – în a VII-a zi, după ce a avut loc o diminuare a amplitudinii în a X-ea zi de secetă (fig. 4 și 5). Viteza de activizare a GPX scade de la 13,5 mkM · g. m. p. în a III-a zi de secetă – la 10,8 mkM · g. m. p. în a X-ea zi. Corespunzător diminuează și viteza de activizare a GR – de la 12,43 mkM · g. m. p. în a III-a zi – la 7,5 mkM · g. m. p. în a X – ea zi de secetă. Se menține la nivel relativ constant numai viteza de activizare a GwPX. Aceste date confirmă încă odată concluzia din lucrarea precedentă [18] despre faptul, că pentru activitate maximă și bine corelată enzimele antioxidative necesită un anumit nivel de hidratare iar deshidratarea mai jos de pragul critic poate cauza inhibarea /sau dezagregarea lor.



**Fig.5. Viteza de schimbare a activității enzimelor antioxidative în frunzele plantelor de *Zea mays* L. cv. X5P515 în funcție de evoluarea în timp a secetei.**

Rezultatele experimentale obținute conduc la concluzia că, principala cauză a afectărilor componentelor celulare în condiții de secetă este deshidratarea țesuturilor,

iar stresul oxidativ reprezintă un efect secundar, indus de deshidratare. Există anumite relații interactive între proprietatea de homeostatare a apei în țesuturi, apariția stresului oxidativ, intensificarea protecției antioxidative și toleranța plantelor la secetă. Toleranța la SO cauzat de secetă nu depinde în așa măsură de nivelul constitutiv și inducibil al activității enzimelor de protecție antioxidantă, cât de capacitatea de menținere a homeostazei apei în țesuturi. Plantele tolerante la secetă datorită proprietății lor de homeostatare a apei și de menținere a hidratării țesuturilor, sunt mai puțin afectate de SRO și, prin consecință, gradul de activizare a enzimelor peroxidazice este corespunzător mai puțin necesară. Totodată, necătând la activitatea constitutivă înaltă a SOD în frunzele genotipului sensibil, activizarea enzimei nu este destul de suficientă pentru a neutraliza superoxid radicalii și de a proteja membranele de la OPL. Deshidratarea țesuturilor induce schimbări în echilibrul dintre activitatea enzimelor antioxidative și o desinhronizare a activității SOD și CAT, SOD și PO. Decalajul dintre gradul semnificativ de activizare a SOD și sporirea neînsemnată a activității CAT, sau chiar inhibarea acesteia, și APX – enzime responsabile de neutralizarea  $H_2O_2$  în condiții de stres, la fel poate fi una din cauzele afecțiunilor oxidative în frunzele cv. intolerant. Are loc o perturbare a coraportului activității enzimelor sistemului de protecție antioxidantă: descrește rata de activitate a SOD, CAT și APX și se majorează ponderea activității componentelor sistemului peroxidazic cu specificitate la fenoli și guaiacol și glutation. Majorarea preponderentă a activității GwPX permite de presupus că la plantele intolerante se induc procesele de lignificare a pereților celulari, de blocare a creșterii celulelor frunzelor prin extensiune, și micșorarea suprafeței foliare.

Deci, stresul hidric provocat de secetă acționează în unison cu stresul oxidativ. În frunzele plantelor slab tolerante la evoluarea în timp a secetei și intensificarea SH și SO, se înregistrează o reducere semnificativă și autentică în relația „doză - efect”: cu mărirea intensității secetei scade efectul de protecție de la SO - amplitudinea activizării enzimelor antioxidative descrește. Persistarea în timp a secetei provoacă oprimarea sistemelor de protecție și accelerarea afecțiunilor induse de SO. Prin aceasta se explică ne corespunderea conținutului DAM, activității enzimelor antioxidative și toleranța cultivarului.

### Concluzii

1. Seceta de aceeași intensitate și durată condiționează apariția unui SO mai puternic la plantele cu un potențial scăzut de autoreglare a status-ului apei.
2. Reducerea gradului de hidratare a țesuturilor, cauzată de insuficiența apei, induce schimbări în echilibrul dintre activitatea enzimelor antioxidative și o desinhronizare a activității SOD și CAT, SOD și PO.
3. Decalajul dintre gradul semnificativ de activizare a SOD și sporirea neînsemnată a activității CAT și APX – enzime responsabile de neutralizarea  $H_2O_2$  în condiții de stres, la fel poate fi una din cauzele afecțiunilor oxidative în frunzele cv. intolerant.
4. Deshidratarea țesuturilor induce o perturbare a coraportului activității enzimelor sistemului de protecție antioxidantă: descrește rata de activitate a SOD, CAT și APX și se majorează ponderea activității componentelor sistemului peroxidazic cu specificitate la fenoli și guaiacol și glutation.
5. În frunzele plantelor slab tolerante odată cu intensificarea factorului de stres

(la evoluarea în timp a secetei) se înregistrează o reducere semnificativă și autentică în relația „doză - efect”: cu mărirea șargei de stres scade amplitudinea activizării enzimelor de protecție. Persistarea în timp a secetei provoacă oprimarea sistemelor de protecție și accelerarea afecțiunilor induse de SO.

### Bibliografie

1. *Alscher R.G., Erturk N., Heath L.S.* Role of Superoxide Dismutases (SODs) in Controlling Oxidative Stress in Plants. // J. Exp. Bot. 2002. 53. P. 1331 – 1341.
2. *Cosio C., Dunand C.* Specific functions of individual class III peroxidase genes. // J. Exp. Bot. 2009. 60. P. 391 – 408
3. *Fischer R.A., R. Maurer.* Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield response // Austr. J. Agric. Res. 1978. V. 28. P. 897-912.
4. *Frei M., Wang Y., Ismail A.M., Wissuwa M.* Biochemical factors conferring shoot tolerance to oxidative stress in rice grown in low zinc soil. // Functional Plant Biology. CSIRO. 2010. P. 74 -84.
5. *Ismail A., Heuer S., Thomson M., Wissuwa M.* Genetic and genomic approaches to develop rice germplasm for problem soils. // Plant Molecular Biology. 2007. 65.P. 547 -570.
6. *Iturbe-Ormaetxe I., Escuredo P.R., Arrese-Igor C., Becana M.* Oxidative Damage in Pea Plants Exposed to Water Deficit or Paraquat.// Plant Physiol. 1998. 116. P. 173 – 181.
7. *Martindale J.L., Holbrook N.J.* Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival.//J. Cell. Physiol. 2002. 192. P.1 -15
8. *Matamoros M.A., Loscos J., Dietz K.-J., Aparicio-Tejo P.M., Becana M.* Function of antioxidant enzymes and metabolites during maturation of pea fruits. // J. Exp. Bot. 2010. 61.No. 1. P. 87 – 97.
9. *Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., Breusegem F.V.* Reactive Oxygen Gene Network of Plants. // Trends Plant Sci. 2004. 9. P. 490 – 498.
10. *Navrot N., Collin V., Gualberto J., Gelhaye E., et al.* Plant Glutathione Peroxidases Are Functional Peroxiredoxins Distributed in Several Subcellular Compartments and Regulated during Biotic and Abiotic Stresses. // Plant. Physiol. 2006. 142.P. 1364 – 1379
11. *Noctor G., Gomez L., Vanacker H., Foyer C.* Interactions between Biosynthesis, Compartmentation and Transport in the Control of Glutathione Homeostasis and Signaling. // J. Exp. Bot. 2002. 53. P. 1283 – 1304.
12. *Noctor G.* Metabolic Signalling in Defense and Stress: The Central Role of Soluble Redox Couples. // Plant, Cell and Environment. 2006. 29. P. 409 – 425.
13. *Passardi F., Cosio C., Penel C., Dunand C.* Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. // Plant Cell Reports. 2005. 24.P. 255 – 265.
14. *Rawlyer A., Arpagaus S., Braendle R.* Impact of oxygen stress and energy availability on membrane stability of plant cells. // Annals of Botany (London). 2002.90. P. 499 – 507.
15. *Robinson M., Sicher R.* Antioxidant Levels Decrease in Primarz Leaves of Barlez during Growth at Ambient and Elevated Carbon Dioxide Levels. // Int. J. Plant Sci. 2004. 165. P. 965 – 972.
16. *Suzuki Y.J., Forman H.J., Sevanian A.* Oxidants as stimulators of signal transduction. // Free Rad. Biol. Med. 1997. 22. P. 269 – 285.
17. *Ștefiriță Anastasia, Brînză Lilia.* Corelația activității unor enzime antioxidative și status-ului apei frunzelor de *zea mays* l. în condiții de secetă. // Buletinul AȘM. Științele vieții. Seria șt. biol., chim. și agricole. Chișinău, 2008, №2, p.41-50.
18. *Ștefiriță Anastasia, Brînză Lilia.* Presiunea hidrostatică și superoxidismutaza – inductori ai reacției nespecifice a plantelor la acțiunea secetei. // Buletinul AȘM. Științele vieții. Seria șt. biol., chim. și agricole. Chișinău, 2008, №3. P.37 – 47.
19. *Ștefiriță Anastasia.* Activitatea fermenților antioxidativi și reacția plantelor la secetă în perioadele critice pentru apă.// Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții. 2009 N 2 , p.40 -49

20. Ștefîrță A., Aluchi N., Melenciuc M., Buceaceaia S. Toleranța la secetă și oxidarea peroxidică a lipidelor în frunzele plantelor de *Zea mays L.*// Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții. 2010. N 3. P.62 – 70.

21. Tsai Y.C., Hong C.Y., Liu L.E., Kao C.H. Expression of Ascorbate Peroxidase and Glutathione Reductase in Roots of Rice Seedlings in Response to NaCl and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> . // J. Plant Physiol. 2005. 162. P. 291 -299.

22. Turhan E., Gulen H., Eris A. The activity of Antioxidative Enzymes in Three Strawberry Related to Salt – Stress Tolerance. // Acta Physiool. Plant. 2008.30. P. 201 – 208.

23. Ампилова Я.Н., Жесткова И.М., Трофимова М.С. Редокс-регуляция аквапорин-опосредованной водной проницаемости плазмалеммы, изолированной из корней проростков гороха. // Международная конференция «Современная физиология растений: от молекул до экосистем». Сыктывкар. 2007. С. 33 – 35.

24. Митева Л., Иванов С., Алексеева В. Изменение пула глутатиона и некоторых ферментов его метаболизма в листьях и корнях растений гороха, обработанных гербицидом глифосфатом, // Физиология растений. 2010. 57. № 1. С. 139 – 145.