

## DINAMIKA STRUKTURNIH I FUNKCIONALNIH PROMENA U TILAKOIDNOJ MEMBRANI SAMOOPLODNIH LINIJA KUKURUZA OTPORNIH I ADAPTIVNIH NA VISOKU TEMPERATURU I SUŠU

RADENOVIĆ, Č., DRINIĆ, G., FILIPOVIĆ, M., JOVANOVIĆ, Ž.,  
MLADENOVIĆ-DRINIĆ SNEŽANA, RADOJČIĆ, A.<sup>1</sup>

*IZVOD: Utvrđene su termalne karakteristike fotosintetičnog aparata proučavanih samooplodnih linija kukuruza, i to: određena je dinamika temperaturne zavisnosti u opsegu od 25 do 60°C, otkrivene su kritične temperature na kojima dolazi do faznih transformacija u tilakoidnoj membrani, a time i do značajnih strukturnih i funkcionalnih promena u fotosintetičnom aparatu ispitivanih samooplodnih linija kukuruza, obračunate su energije aktivacije (Ea, kJ/mol) duž pravih linija pre i posle nastanka kritične temperature. Energija aktivacije je mera nastajanja rekombinacionih reakcija povezanih sa uspostavljanjem zakasnele fluorescencije (ZF) blorofila, a time i ukupnih promena u strukturi i funkciji tilakoidnih membrana.*

*Rezultati i diskusija izloženih parametara ukupnih terminalnih procesa ZF blorofila, kao što su: temperaturna zavisnost, kritične temperature i energija aktivacije mogu doprineti egzaktnijem karakterisanju samooplodnih linija kukuruza u odnosu na njihovu otpornost i adaptivnost prema višoj i visokoj temperaturi i suši, što doprinosi egzaktnijem i racionalnijem odvijanju procesa oplemenjivanja.*

**Ključne reči:** samooplodna linija kukuruza, tilakoidna membrana, fotosintetični i termalni proces, zakasnela fluorescencija, otpornost i adaptivnost

UVOD: Ovaj rad povezuje, na direktan i indirektan način, složene procese oplemenjivanja, fotosinteze i fluoroscencije kod samooplodnih linija kukuruza. Njime se analiziraju razvojni putevi navedenih procesa, ističu dominantne karakteristike samooplodnih linija kukuruza i pronalaze mesta njihove međusobne zavisnosti. Oplemenjivanje kukuruza i savremena semenska proizvodnja intenzivno su se razvijale u poslednjih 60 godina. Kao rezultat takve aktivnosti stvoreno je više od 1000 hibrida kukuruza za zrno i silažu. Obezbeđeni su savremeni tehničko-tehnološki preduslovi za obavljanje modernog procesa oplemenjivanja i razvijene semenske proizvodnje (Duvick 1984, Trifunović 1986, Ivanović et al. 1995, Radenović i

Somborac 2000). Bez obzira na takav kolo-salan uspeh u oplemenjivanju i semenarstvu kukuruza zamah i zanos ukupnih istraživanja se ne usporava. Naprotiv, i dalje se traga za novim metodama i egzaktnim pristupima kako bi se proučavanja u oplemenjivanju i aktivnosti u semenarstvu kukuruza još više upotpunila i obogatila. Razvojni put fotosinteze kukuruza bio je znatno drugačiji. Naime, iako su fotosintetični procesi veoma rašireni, po intenzitetu visoko produktivni, po svojoj prirodi vrlo kompleksni, po naučnoj aktuelnosti mnogo izučavani, oni nisu našli značajniju aplikaciju u oplemenjivanju kukuruza. Gotovo da nije moguće dati jasnu i direktnu međuzavisnost fotosinteze i oplemenjivanja kukuruza. Takvo stanje je verovat-

Originalni naučni rad (Original scientific paper)

<sup>1</sup> Prof. dr ČEDOMIR RADENOVIĆ, naučni savetnik, dr GORAN DRINIĆ, viši naučni saradnik, dr MILOMIR FILIPOVIĆ, naučni saradnik, dr ŽIVOTA JOVANOVIĆ, viši naučni saradnik, dr SNEŽANA MLADENOVIĆ-DRINIĆ, naučni savetnik, dipl.ing. ALEKSANDAR RADOJČIĆ, Institut za kukuruz "Zemun Polje", Beograd

no posledica postojanja više funkcionalnih međuzavisnosti koje objedinjuju strukturalno-dinamične promene unutar hloroplasta i njihovih tilakoidnih membrana, sa jedne, i delovanja više faktora spoljašnje sredine na njih, sa druge strane.

Zakasnela fluorescencija (ZF) hlorofila se fenomenološki može opisati kao pojava svetljenja (bioluminescencija) biljnih sistema: bakterija, algi i viših biljaka (kukuruz) u crvenoj oblasti spektra, neposredno nakon intermitentnog osvetljavanja intaktnog lista (Radenović, 1992, 1994, 1997). ZF hlorofila su otkrili Strehler i Arnold (1951) pokušavajući da razjasne prirodu indukovane produkcije u vidu bioluminescencije. Brojna proučavanja, pogotovu poslednjih dvadeset godina (Jursinic 1986, Marković et al. 1993, 1996, Veselovski and Veselova 1990), otkrila su direktnu povezanost ZF hlorofila sa fotosintetičnim procesima, u kojima se ZF hlorofila smatra njihovim nezaobilaznim indikatorom - osetljivom "sondom" za eksperimentalna fotosintetična proučavanja (Radenović et al. 1994a, 1994b, Radenović and Jeremić 1996, Marković et al. 1987, 1996, 1993, 1999). Već danas, ZF hlorofila služi kao efikasno sredstvo, odnosno kao savremeni metodski postupak pri proučavanju određenih, iako složenih fotoprocasa u "svetloj" fazi fotosinteze. Kao aktuelna pitanja u vezi sa ovim smatraju se termalni procesi ZF hlorofila, kritične temperature u tilakoidnim membranama i promena energije aktivacije u njima (Radenović 1997; Radenović and Jeremić 1996).

Cilj ovoga rada je da se utvrdi uticaj viših i visokih temperatura, kao i suše, na promenu ukupnih termalnih procesa ZF hlorofila u tilakoidnoj membrani proučavanih samooplodnih linija kukuruza. Dobijene promene u intenzitetu ZF hlorofila, promene u aktivacionim energijama i određivanje vremena pojavljivanja kritičnih temperatura, na kojima dolazi do evidentnih strukturalnih i funkcionalnih promena u tilakoidnoj membrani, su dobar pokazatelj za ocenu otpornosti i adaptivnosti ispitivanih samooplodnih linija kukuruza prema višim, visokim temperaturama i suši.

### Materijal i metod rada

Kao materijal - objekat ispitivanja u ovim istraživanjima korišćene su samooplodne linije kukuruza iz kolekcije Instituta za kukuruz "Zemun Polje". Tri linije, i to: ZPPL

14, ZPPL 52 i ZPPL 53 su kreacije ovog Instituta, dok su preostale dve A 654 i A 671 poreklom iz SAD-a.

Osnovne karakteristike navedenih linija su sledeće:

1. ZPPL 53 je dobijena iz kombinacije (F7 x F2) x W 401. Pripada grupi zrenja FAO 250. Zrno je u tipu polutvrduca žute boje, a oklasak je beo. Linija je vlasništvo Instituta za kukuruz "Zemun Polje".
2. A 654 potiče iz hibrida A 116 x WF 9. Pripada grupi zrenja FAO 250. Zrno je u tipu zubana, svetložute boje, a oklasak je bele boje. Linija je selekcionisana na Univerzitetu u Minesoti, SAD i pripada grupi javnih (public) linija.
3. ZPPL 14 potiče iz ukrštanja linije A 82 sa jednom sortom višeredog zubana poreklom iz Srbije. Pripada grupi zrenja FAO 450. Zrno je u tipu zubana žute boje, a oklasak je crven. Linija je vlasništvo Instituta za kukuruz "Zemun Polje".
4. A 671 potiče iz ukrštanja (W 103 x N13A) x N13A<sup>2</sup>. Pripada grupi zrenja FAO 500. Zrno je u tipu zubana žute boje, a oklasak je crven. Linija je selekcionisana na Univerzitetu u Minesoti, SAD i pripada grupi javnih (public) linija.
5. ZPPL 52 potiče iz slobodnooprašujućih sorti poreklom iz Istre. Pripada grupi zrenja FAO 600. Zrno je u tipu tvrduca, crvenožute boje, a oklasak je bele boje. Linija je vlasništvo Instituta za kukuruz "Zemun Polje".

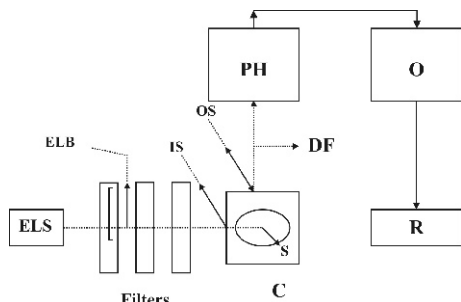
Neinvazivni fotosintetično-fluorescentni metod za merenje ZF hlorofila shematski je prikazan na Sl.1. Navedena blok shema bioluminiscentne metode razvijena je i najduže se koristi u Institutu za kukuruz "Zemun Polje". Merenje promene intenziteta ZF hlorofila vršeno je po metodu koji je, u principu i pojedinostima, opisan u radovima (Radenović, 1979, 1992, 1994, 1997; Radenović et al. 2002; Marković et al. 1996).

Ispitivani objekti su gajeni u oglednom polju. Tokom jula i avgusta biljke kukuruza su ujutru (između 7.00 i 8.00 časova) donošene iz polja u laboratoriju. Prilikom uzimanja iz polja biljke su koso zasecane na prizemnoj internodiji. U laboratoriji su biljke držane tako što su bile postavljene u vodu po dužini jedne internodije. Dva časa pre bioluminiscentnog eksperimenta biljke su držane u crnom staklenom zvonu. Sa takvih biljaka je uziman segment intaktnog lista na klipu i stavljan u komoru fosforoskopa (Sl. 1.). U ovim eksperimentima, segmenat lista je držan

u komori (u mraku) najmanje 15 minuta. Prilikom praćenja uticaja suše, biljke su, posebno njihovi listovi držani na vazduhu 24 časa.

Sl. 1. Principijelna shema fotosintetično-fluorescentnog metoda i aparature za merenje zakasnele fluorescencije hlorofila: C-mračna komora sa postoljem za uzorke, s-uzorak (segment intaktnog lista), filtri, ELS-izvor ekscitirajuće svetlosti, PH-fotomultiplikator, O-osciloskop, R-pisač, ELB-ekscitirajući zrak, DF-luminiscentna svetlost (ZF hlorofila), is-ulazni prorez, os-izlazni prorez iz komore.

Fig. 1. Potential scheme of the photosynthetic-fluorescence method and measuring equipment for chlorophyll delayed fluorescence: C - dark chamber with a sample stand; s - sample (intact leaf segment), filters, ELS - excitation light source, PH - photo-multiplier; O - oscilloscope, R - printer, ELB - excitation light beam, DF - luminescent light, IS - input chamber slot, os - output chamber slot



## Rezultati istraživanja

U okviru ukupnih uslova merenja ZF hlorofila dobijeni su karakteristični rezultati o promeni intenziteta u vidu indukcione i termalne krive, Sl. 2. U ovom radu posebno je razmatran uticaj temperature na stacionarni nivo ZF hlorofila. Taj uticaj temperature, koja je kontinualno povećavana u opsegu 25-60°C, na intenzitet i kinetiku termalnih procesa ZF hlorofila analiziran je praćenjem promena kod posmatranih segmenata termalne krive, Sl. 2. Pri proučavanju linija kukuruza bilo je potrebno razlikovati navedene segmente termalne krive i registrovati značajne razlike u dužini njihovog trajanja, i to:

a stacionarni nivo intenziteta ZF traje  $72 \pm 6$  sekundi,

b početno povećavanje intenziteta ZF traje  $984 \pm 8$  sekundi,

c strmo, linearalno povećavanje intenziteta ZF traje  $408 \pm 5$  sekundi,

d maksimalni nivo intenziteta ZF traje  $210 \pm 4$  sekundi,

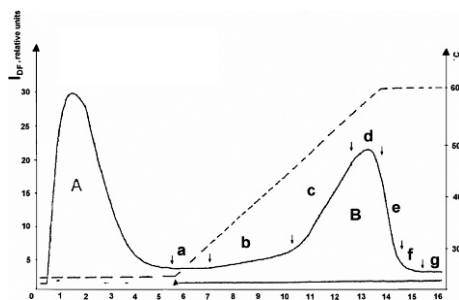
e nagli, linearni pad intenziteta ZF traje  $194 \pm 7$  sekundi,

f usporeno smanjenje intenziteta ZF traje  $138 \pm 5$  sekundi, i

g iscrpljeni nivo intenziteta ZF traje  $84 \pm 3$  sekundi.

Sl. 2. Shematski prikaz tipičnih promena intenziteta ZF hlorofila na intaktnom listu proučavanih samooplodnih linija kukuruza (puna linija) i promene temperature (isprekidana linija): kriva A označava indukcione procese ZF hlorofila, a kriva B obubvata termalne procese ZF hlorofila.

Fig. 2. Schematic presentation of characteristic changes of chlorophyll DF intensities in intact leaves of observed maize inbred lines (solid line) and temperature changes (dashed line): curve A stands for induction processes of chlorophyll DF, while curve B stands for thermal process of chlorophyll DF.



Unutar navedenih segmenata termalne krive, a naročito na njihovim granicama, dolazi do navedenog temperaturnog uticaja, Sl. 2. Direktnim vršenjem eksperimenata, za svaku liniju posebno dobijaju se rezultati o promeni intenziteta ZF hlorofila u funkciji vremena nastajanja. Ovako dobijeni rezultati poslužili su za računsku i statističku obradu i kao takvi izlažu se u ovom radu za svaku samooplodnu liniju kukuruza posebno.

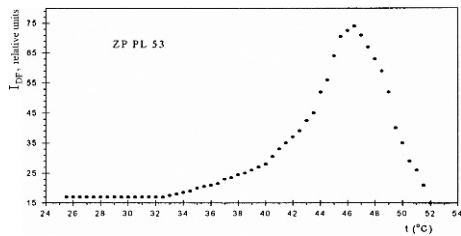
## ZPPL 53

Na Sl. 3. data je temperaturna zavisnost ove linije u opsegu temperature od 25 do 60°C. Intenzitet ZF hlorofila, u njegovom

rastućem trendu, Sl. 2 b-d, počinje da se povećava već na 33,0°C. Rastenje intenziteta ZF hlorofila se nastavlja sa njegovom promenom na 40°C, a zatim, na 43,5°C i dalje, do njegovog zaobljenog maksimuma, na 45 i 47°C. Opadanje intenziteta ZF hlorofila, sa daljim povećavanjem temperature je monotoniје, strmije i linarnije, Sl. 3.

Sl. 3. Promena intenziteta zakasnele fluorescencije hlorofila (IZF) termalnih procesa u zavisnosti od delovanja temperature u tilakoidnoj membrani intaktnog lista samooplodne linije kukuruza ZPPL 53.

Fig. 3. Changes of chlorophyll delayed fluorescence intensities (IDF) of thermal processes in dependence on temperature impacts in thylakoid membranes of the intact leaf of the maize inbred line ZPPL 53.

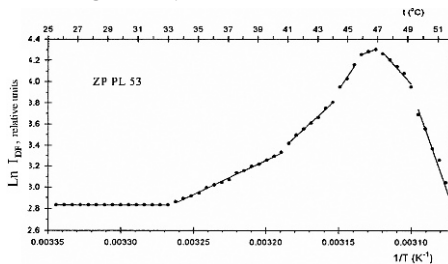


Arenijusovim kriterijumom o linearizaciji temperaturne zavisnosti ZF hlorofila utvrđuju se sve kritične temperature na kojima dolazi do strukturnih promena u tilakoidnoj membrani samooplodne linije ZPPL 53, Sl. 4, Tabela 1. Vrednost kritičnih temperatura u °C, njihov broj i međusobna udaljenost, karakterišu samooplodnu liniju kukuruza u odnosu na njenu otpornost prema višim i visokim temperaturama, kao i prema suši.

Arenijusov kriterijum zasnovan je na postojanju pravih linija. Svaka Arenijusova prava linija reprezentuje svoju energiju aktivacije (Ea). Mesto, gde se dve prave linije presecaju određeno je kritičnom temperaturom. Svakoј od navedenih kritičnih temperatura jedna vrednost Ea prethodi, a druga vrednost Ea sleduje, Sl. 4, Tabela 1. Strukturne promene, na navedenim kritičnim temperaturama u tilakoidnoj membrani proučavane samooplodne linije kukuruza, praćene su energijama aktivacije, Tabela 1. Ea, koje se odnose na rastući trend intenziteta ZF hlorofila, imaju negativan predznak (-54,1; -105,1; -174,2; -41,0 kJ/mol). Međutim, Ea koje prate opadajući trend intenziteta ZF hlorofila, imaju pozitivan predznak (128,6 i 326,2 kJ/mol) i uslovljene su sunčevom enrgijom, Tabela 1.

Sl. 4. Promena logaritma intenziteta zakasnele fluorescencije hlorofila (Ln IZF) termalnih procesa u zavisnosti od delovanja recipročne vrednosti temperature u tilakoidnoj membrani intaktnog lista samooplodne linije kukuruza ZPPL 53. (Ovakva zavisnost poznata je pod nazivom Arenijusov kriterijum za određivanje kritičnih temperatura koje uslovljavaju strukturne i funkcionalne promene u tilakoidnoj membrani).

Fig. 4. A logarithmic change of chlorophyll delayed fluorescence intensities (Ln IDF) of thermal processes in dependence on reciprocal temperature values in thylakoid membranes of the intact leaf of the maize inbred line ZPPL 53 (such dependence is known as the Arrbenius plot for evaluation of critical temperatures that cause conformational and functional changes in thylakoid membranes).



Tab. 1. Promena energije aktivacije (Ea) i kritičnih temperatura za vreme termalnih procesa u tilakoidnoj membrani intaktnog lista samooplodne linije kukuruza ZPPL 53 i ZPPL 53-list držan na vazdubu 24h

Tab. 1. Changes of activation energy (Ea) and critical temperatures during thermal processes in thylakoid membranes of the intact leaf of the maize inbred lines ZPPL 53 and ZPPL 53-air drought treatment for 24 hours.

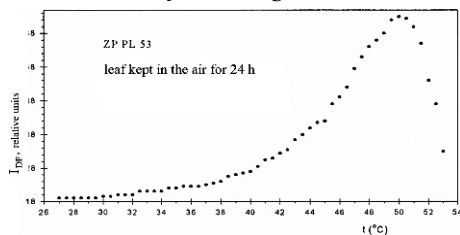
ZP PL 53		ZP PL 53 list držan na vazduhu 24h	
Ea, kJ/mol	t°C	Ea, kJ/mol	t°C
-	33,5	-	30,0
- 54,5	40,0	- 24,1	40,5
-105,0	44,0	- 89,0	49,5
-174,0	46,0	- 6,0	51
- 41,0	47,0	242,3	-
128,5	49,5	-	-
326,0	-	-	-

## ZPPL 53 - list držan na vazduhu 24h

Na Sl. 5 i 6, dati su rezultati o promeni intenziteta ZF hlorofila u zavisnosti od temperature i Arenijusovog kriterijuma, iz kojeg proizilaze kritične temperature i Ea čije su vrednosti drugačije, Tabela 1. Ovo omogućava donošenje ocene o intenzitetu i karakteru delovanja temperature i suše na proučavanu samooplodnu liniju kukuruza (ZPPL 53 - list držan na vazduhu 24h).

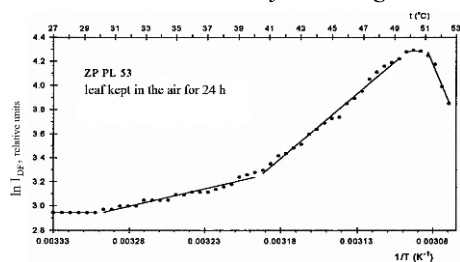
Sl. 5. Promena intenziteta zakasnele fluorescencije hlorofila (IZF) termalnih procesa u zavisnosti od delovanja temperature u tilakoidnoj membrani intaktnog lista samooplodne linije kukuruza ZP PL 53 koja je tretirana sa vazдушnom sušom.

Fig. 5. Changes of chlorophyll delayed fluorescence intensities (IDF) of thermal processes in dependence on temperature impacts in thylakoid membranes of the intact leaf of the maize inbred line ZPPL 53 treated by air drought.



Sl.6. Arenijusov kriterijum za određivanje kritičnih temperatura (presek dveju pravih linija) koje uslovljavaju strukturne promene u tilakoidnoj membrani intaktnog lista samooplodne linije kukuruza ZPPL 53, koja je tretirana sa vazдушnom sušom.

Fig. 6. Arrhenius plot for evaluation of critical temperatures (interception point of straight lines) that cause conformational changes in thylakoid membranes of the intact leaf of the maize inbred line ZPPL 53 treated by air drought.

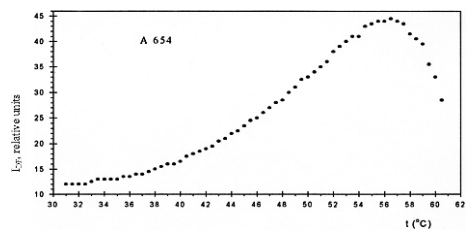


## A 654

Temperaturna zavisnost ove samooplodne linije kukuruza je postepenija, manje strma u rastućem delu intenziteta ZF hlorofila, Sl. 7. Maksimalna vrednost intenziteta ZF hlorofila ne dostiže se ostrim vrhom, a postiže se na 57°C. Daljim povećavanjem temperature intenzitet ZF hlorofila opada strmije, Sl.7.

Sl.7. Promena intenziteta zakasnele fluorescencije hlorofila (IZF) termalnih procesa u zavisnosti od delovanja temperature u tilakoidnoj membrani intaktnog lista samooplodne linije kukuruza A 654.

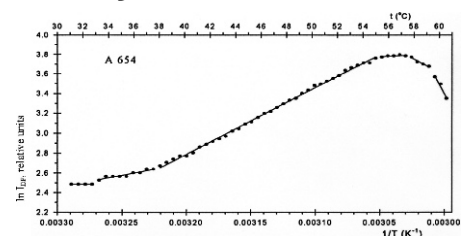
Fig. 7. Changes of chlorophyll delayed fluorescence intensities (IDF) of thermal processes in dependence on temperature impacts in thylakoid membranes of the intact leaf of the maize inbred line A654.



Arenijusovim postupkom linearizacije, dobijaju se četiri vrednosti za kritične temperature u rastućem delu intenziteta ZF hlorofila (30,9; 38,0; 55,0 i 57,5°C), a samo jedna vrednost za kritičnu temperaturu (59,5°C) u opadajućem delu temperature zavisnosti, Sl. 8, Tabela 2.

Sl.8. Arenijusov kriterijum za određivanje kritičnih temperatura koje uslovljavaju strukturne promene u tilakoidnoj membrani intaktnog lista samooplodne linije kukuruza A 654.

Fig. 8. Arrhenius plot for evaluation of critical temperatures that cause conformational changes in thylakoid membranes of the intact leaf of the maize inbred line A654.



Tab. 2. Promena energije aktivacije ( $E_a$ ) i kritičnih temperatura za vreme termalnih procesa u tilakoidnoj membrani intaktnog lista samooplodne linije kukuruza A 654.

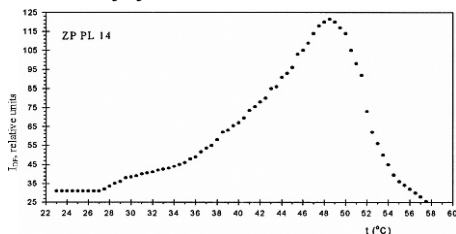
Tab. 2. Changes of activation energy ( $E_a$ ) and critical temperatures during thermal processes in thylakoid membranes of the intact leaf of the maize inbred line A654

$E_a$ , kJ/mol	$t^{\circ}\text{C}$
/	30,9
-20,52	38,0
-55,92	55,0
-6,16	57,5
57,31	59,5
202,46	/

Energije aktivacije, koje se odnose na rastuću temperaturnu zavisnost, imaju negativnu vrednost (-20,52; -55,42 i -6,16 kJ/mol), Tabela 2.  $E_a$ , koje se odnose na opadajuću temperaturnu zavisnost, imaju pozitivne vrednosti (57,31 i 202,46 kJ/mol), Tab. 2.

Sl. 9. Promena intenziteta zakasnele fluorescencije hlorofila (IZF) termalnih procesa u zaviosnosti od delovanja temperatura u tilakoidnoj membrani intaktnog lista samooplodne linije kukuruza ZPPL 14.

Fig. 9. Changes of chlorophyll delayed fluorescence intensities (IDF) of thermal processes in dependence on temperature impacts in thylakoid membranes of the intact leaf of the maize inbred line ZPPL 14.



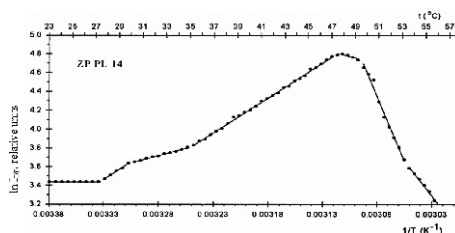
#### ZPPL 14

Temperaturna zavisnost ove samooplodne linije je data na Sl. 9. Arenijusovim postupkom linearizacije dobijene su četiri kritične temperature u rastućem delu intenziteta ZF hlorofila (27,0; 29,5; 35,0 i 47,5°C) i dve vrednosti za kritičnu temperaturu (49,5 i 53,0°C) u opadajućem delu temperaturne

zavisnosti, Sl. 10, Tabela 3. Energije aktivacije, koje se odnose na rastuću temperaturnu zavisnost, imaju negativnu vrednost (-62,9; -26,1; -61,5 kJ/mol).  $E_a$ , koji se odnose na opadajuću temperaturnu zavisnost, imaju pozitivnu vrednost (24,2; 227,2 i 124,2 kJ/mol), Tabela 3.

Sl. 10. Arenijusov kriterijum za određivanje kritičnih temperatura koje uslovljavaju strukturne promene u tilakoidnoj membrani intaktnog lista samooplodne linije kukuruza ZPPL 14.

Fig. 10. Arrhenius plot for evaluation of critical temperatures that cause conformational changes in thylakoid membranes of the intact leaf of the maize inbred line ZPPL 14.



Tab. 3. Promene energije aktivacije ( $E_a$ ) i kritičnih temperatura za vreme termalnih procesa u tilakoidnoj membrani intaktnog lista samooplodne linije kukuruza ZP PL 14.

Tab. 3. Changes of activation energy ( $E_a$ ) and critical temperatures during thermal processes in thylakoid membranes of the intact leaf of the maize inbred line ZPPL 14

$E_a$ , kJ/mol	$t^{\circ}\text{C}$
-	27,0
- 62,9	29,5
- 26,1	35,0
- 61,5	47,5
24,2	49,5
227,2	53,0
124,2	-

#### A 671 i A 671- list držan na vazduhu 24h

Identični eksperimenti i obrada rezultata vršeni su i na samooplodnoj liniji kukuruza A 671 i A 671 koja je tretirana sa vazdušnom sušom. Relevantni rezultati za kritične temperature i energije aktivacije su dati u Tabeli 4.

*Tab. 4. Promena energije aktivacije (Ea) i kritičnih temperatura za vreme termalnih procesa u tilakoidnoj membrani intaktnog lista samooplodne linije kukuruza A 671 i A 671 - list držan na vazduhu 24h.*

*Tab. 4. Changes of activation energy (Ea) and critical temperatures during thermal processes in thylakoid membranes of the intact leaf of the maize inbred lines A 671 and A 671-air drought treatment for 24 hours.*

A 671		A 671-list držan na vazduhu 24h	
Ea, kJ/mol	t°C	Ea, kJ/mol	t°C
-	37,0	-	32,5
- 52,5	40,5	- 42,5	37,0
- 92,0	43,0	-101,5	47,5
- 143,5	45,5	- 6,5	49,0
- 166,5	49,5	81,5	51,5
215,5	-	255,0	-

## ZPPL 52

I ova samooplodna linija kukuruza prošla je isti redosled ispitivanja i istu obradu svih rezultata. Dobiveni rezultati za kritične temperature i energije aktivacije dati su u Tabeli 5.

*Tab. 5. Promena energije aktivacije (Ea) i kritičnih temperatura za vreme termalnih procesa u tilakoidnoj membrani intaktnog lista samooplodne linije kukuruza ZPPL 52.*

*Tab. 5. Changes of activation energy (Ea) and critical temperatures during thermal processes in thylakoid membranes of the intact leaf of the maize inbred line ZPPL 52*

Ea, kJ/mol	t°C
-	27,0
- 74,41	53,0
- 41,05	56,5
104,58	59,9
241,44	-

## Diskusija

Temperaturnu zavisnost ZF hlorofila, kod proučavanih samooplodnih linija kukuruza, samo donekle karakterišu njena četiri tipična mesta - segmenti na referentnoj termalnoj krivoj, Sl. 2. Prvo tipično mesto tiče se najniže temperature na kojoj se zapaža prva promena

intenziteta ZF hlorofila. Drugo tipično mesto odnosi se na linearnu monotonost i dinamiku rastućeg dela intenziteta ZF hlorofila. Treće tipično mesto odražava manju ili veću zaobljenost maksimalnog intenziteta ZF hlorofila. I na kraju, četvrto tipično mesto odnosi se na linearnu monotonost i dinamiku opadajućeg dela intenziteta ZF hlorofila. Navedena, iako karakteristična mesta po uticaju temperature samo su nagoveštaji mogućih strukturnih i funkcionalnih promena u tilakoidnoj membrani proučavanih samooplodnih linija kukuruza i ona su samo delimično u literaturi sadržana (Vučinić et al. 1982; Radenović 1994; Marković et al. 1987).

Arenijusovim kriterijumom i linearizacijom temperaturne zavisnosti ZF hlorofila utvrđene su kritične temperature na kojima dolazi i do najmanjih strukturnih promena u tilakoidnoj membrani proučavanih samooplodnih linija kukuruza. Vrednosti kritičnih temperatura u °C, njihov broj i međusobna udaljenost karakterišu samooplodnu liniju kukuruza u odnosu na njenu otpornost ili toelrantnost i adaptivnost prema višim i visokim temperaturama, kao i prema suši. Arenijusov kriterijum zasnovan je na postojanju pravih linija. Svaka Arenijusova prava linija reprezentuje energiju aktivacije (Ea). Mesto, gde se dve prave presecaju određeno je sa kritičnom temperaturom. Svako od kritičnih temperatura, prvo, predhodi jedna vrednost Ea, i drugo, sleduje još jedna vrednost Ea (Radenović, 1985, 1997, Marković et al. 1993, 1996). Termalni procesi ZF hlorofila, kod svih proučavanih samooplodnih linija kukuruza, imaju negativne energije aktivacije i to samo u delu termalne krive sa rastućim intenzitetom ZF hlorofila (Sl.2a-d). Međutim, u delu termalne krive sa opadajućim intenzitetom ZF hlorofila energije aktivacije su pozitivne. Ovakve negativne energije aktivacije u termalnim procesima tilakoidne membrane samooplodnih linija kukuruza, prvi put se konstatuju u ovom radu. Pojava negativnih energija aktivacije, u rastućem delu termalne krive, objašnjava se time da, sa porastom temperature, dolazi do takvih, nekada manjih, nekada većih, strukturnih promena kod molekula u tilakoidnoj membrani, usled kojih ti molekuli postaju reaktivniji, a time oni stiču novu energiju, koju koriste u rekombinacionom procesu nastajanja ZF hlorofila.

U opadajućem delu termalne krive, Ea je pozitivna, što se objašnjava identičnim načinom kakav je u svim hemijskim reakcijama. Naime, tilakoidne membrane su pretrpele

značajne strukturne promene, posebno u delu termalne krive, posle nastanka maksimalne vrednosti intenziteta i njegovog naglog linearnog pada. Ovakvo stanje, u tilakoidnoj membrani, mnogo više odgovara neživom, nego živom stanju organizma, kako po svojoj strukturi, tako i po svojim funkcijama. Prisustvo pozitivne energije aktivacije u ovakvom fotosintetičnom procesu potiče od sunčeve energije.

Sa žaljenjem možemo konstatovati da nema literature o ZF hlorofila intaktnih listova viših biljaka, koja bi sadržala rezultate sa pokazateljima za karakterisanje samooplodnih linija kukuruza u odnosu na njihovu otpornost i adaptivnost prema višim i visokim temperaturama, kao i prema suši. Literatura koja postoji, koja je inače korišćena pri pisanju ovoga rada, više se odnosi na procese i mehanizme nastajanja i odvijanja ZF hlorofila od interesa za biofizička, biohemijska i fiziološka istraživanja ukupnog fotosintetičnog procesa (Jursinic 1986; Kerečki et al. 1986; Marković et al. 1987, 1993, 1999; Radenović 1992, 1994, 1997).

U ovom radu učinjen je napor da se iskoriste stečena znanja i višegodišnje iskustvo i da se utvrde parametri koji se primenjuju u procesima egzaktnijeg i racionalnijeg oplemenjivanja kukuruza. Fotosintetično-fluorescentni metod o ZF hlorofila je, sa naše strane, u potpunosti razvijen, a budući da je neinvazivan on je ne samo originalan, nego i perspektivan u oblasti oplemenjivanja biljaka.

### Zaključak

Na osnovu iznetih rezultata istraživanja i njihove diskusije može se konstatovati da se fotosintetično-fluorescentni metod, kao neinvazivni kandiduje za primenu u oplemenjivanju i semenarstvu radi utvrđivanja ocene samooplodnih linija kukuruza na otpornost i adaptiranost prema višim i visokim temperaturama, kao i prema suši.

Utvrđene su termalne karakteristike fotosintetičnog aparata proučavanih samooplodnih linija kukuruza, i to:

- temperaturna zavisnost u opsegu 25°C - 60°C,
- vrednost za kritične temperature na kojima dolazi do manjih i većih strukturnih i funkcionalnih promena u tilakoidnoj membrani,
- vrednosti za energije aktivacije (Ea, kJ/mol) duž pravih linija pre i posle pojave kritične temperature u termalnom procesu.

Utvrđena je različita monotonost u rastućem delu intenziteta termalne krive, što ukazuje na nejednaku otpornost i adaptiranost ispitivanih samooplodnih linija kukuruza prema višim i visokim temperaturama, kao i prema suši.

Proučavane samooplodne linije kukuruza u odnosu na njihovu otpornost prema višim i visokim temperaturama, kao i prema suši, rangiraju se na sledeći način:

- pokazano je da su samooplodne linije kukuruza ZPPL 52 i A 654 vrlo otporne prema visokim temperaturama,
- samooplodne linije kukuruza ZPPL 14 i A671 imaju zadovoljavajuću otpornost prema visokim temperaturama,
- samooplodna linija kukuruza ZPPL 53 je nešto osetljivija prema visokim temperaturama
- samooplodna linija kukuruza A 671 je otpornija na sušu od linije ZPPL 53.

### Naznaka i zahvalnost

Ova tematika studirana je preko tri decenije i obuhvatala je razvoj metoda, raznovrsna eksperimentalna istraživanja i teorijska razmatranja.

Za njenu realizaciju najveća finansijska sredstva ulagao je Institut za kukuruz "Zemun Polje", a delimično i Ministarstva za nauku Srbije i Jugoslavije (brojevi projekata: 03E22 i 12E11).

Autori sa posebnim zadovoljstvom odaju priznanje i zahvalnost dr Vladimiru Trifunoviću i dr Milutinu Penčiću za njihovu stalnu podršku.

### LITERATURA

- DUVICKD. N., (1984): Genetic contribution to yield gains of U.S. hybrid maize, 1930-1980. In. (W.R.Fehr, ed.) Genetic contributions to yield gains of five major Crop Plants. CSSA, Spec. Publ. 7. pp 15-47, CSSA and ASA, Madison, WI.
- IVANOVIĆ M., R. PETROVIĆ, G. DRINIĆ, V. TRIFUNOVIĆ, L. KOJIĆ, M. VUKOVIĆ, M. MIŠOVIĆ, G. RADOVIĆ, D. RISTANOVIĆ, Z. PAJIĆ, B.V. TRIFUNOVIĆ I D. JELOVAC (1995): Pedeset godina selekcije ZP hibrida kukuruza. In. "Oplemenjivanje, proizvod-



- nja i iskorišćavanje kukuruza-50 godina Instituta za kukuruz Zemun polje", str. 3-16 Beograd.
- JURŠINIĆ, P. (1986): Delayed fluorescence: current concepts and status. In: Govindjee, mesz & Fork CD (Eds). Light emission by plants and bacteria. Academic Press, Orlando, FL, pp 291-328.
- KEREČKI, B., LJ. ZARIĆ, M. PENČIĆ & Č. RADENOVIĆ (1986): Neki pokazatelji otpornosti prema nepovoljnim temperaturama i njihova primena u selekciji kukuruza. In: genetika i oplemenjivanje kukuruza, Beograd, Jugoslavija pp. 293-308.
- MARKOVIĆ, D., M., JEREMIĆ & Č. RADENOVIĆ (1996): Zakasnela fluorescencija hlorofila. In: Savremena Biofizika, ed.Velarta, Beograd, Jugoslavija, pp. 1-102.
- MARKOVIĆ, D, M., JEREMIĆ & Č. RADENOVIĆ & M. SCHARA (1993): Irreversible structural changes in thylakoid membranes at high temperatures detection by luminescence and EPR. Gen. Physiol. Biophys. 12: 37-47.
- MARKOVIĆ, D., M., JEREMIĆ & Č. RADENOVIĆ & Ž. VUČINIĆ (1987): A study of temperature induced structural changes in photosynthetic system using delayed fluorescence. Journal Serb. Chem. Soc. 52: 331-336.
- MARKOVIĆ, D., Č. RADENOVIĆ, L. RAFILOVIĆ, S. ŽERAJIC, M. JEREMIĆ & M. MARKOVIĆ (1999): Temperature dependence of delayed fluorescence induction curve transients. Gen.Physiol. Biophys. 18: 257-267.
- RADENOVIĆ, Č. (1979): Neinvazivni bioluminescentni metod u principu i pojedino-stima. Interna publikacija Instituta za kukuruz "Zemun Polje", 1-23, Beograd.
- RADENOVIĆ, Č. (1985): Boltzmanov izraz za aktivacionu energiju i njegova primena u biološkim sistemima. Interna publikacija Instituta za kukuruz "Zemun Polje" Beograd, pp 1-9.
- RADENOVIĆ, Č. (1992): Proučavanje fotoindukovane bioluminescencije kod lista kukuruza. Savremena poljoprivreda, 40, 6:15-38.
- RADENOVIĆ, Č. (1994): A study of delayed fluorescence in plant models: Photosynthetic transportation and membrane processes. Journal Serb. Chem.Soc. 59:595-617.
- RADENOVIĆ, Č. (1997): Induction processes and activation energy of delayed chlorophyll fluorescence. Proceedings for Natural Sciences of Matica Srpska 93: 5-14.
- RADENOVIĆ, Č., & M.JEREMIĆ (1996): The study of delayed light emission in plant models. Arch.biol. Sci.48: 1-18.
- RADENOVIĆ, Č., M. JEREMIĆ & D. MARKOVIĆ (1994a): Fotoinducirovanaja bioluminescencija rastenij fotosintetičeskie, transportnije i membranije processi. Fiziologija i Biohimija kulturnih rastenij 26: 419-433.
- RADENOVIĆ, Č., M. JEREMIĆ & D. MARKOVIĆ (1994b): Delayed chlorophyll fluorescence in plant models. Photosynthetica 30: 1-24.
- RADENOVIĆ Č. i SOMBORAC M., urednici (2000): Kukuruz na pragu trećeg milenijuma-sećanja, kazivanja i predviđanja. Izdavač Institut za kukuruz Zemun Polje, Beograd.
- RADENOVIĆ Č., M. BABIĆ, N. DELIĆ, I. ŠATA-RIĆ i L. KOJIĆ (2002): Novij fotosintetičesko-bioluminescentnij metod v selekciji kukuruza. Kukuruz i sorgo 4: 21-24.
- STREHLER, L.B.& WARNOLD (1951): Light production by green plants. J.Gen.Physiol. 34: 809-820.
- TRIFUNOVIĆ V. (1986): Četrdeset godina moderne selekcije kukuruza u Jugoslaviji. In. "Genetika i oplemenjivanje kukuruza. Dostignuća i nove mogućnosti", str. 5-46 Beograd.
- VESELOVSKI, V.A. & T.V.VESELOVA (1990): Luminescent characteristics of plants photosynthetic apparatus. In: Luminescence of Plants, ed.Nauka, Moscow, Russia, pp. 8-78.
- VUČINIĆ, Ž., B. NEŠIĆ & Č. RADENOVIĆ (1982): Delayed fluorescence as an in situ probe of fluidity changes in maize photosynthetic apparatus. Period. biol. 84: 223-226.

**DYNAMICS OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN THE THYLAKOID  
MEMBRANE OF MAIZE INBRED LINES RESISTANT AND ADAPTED TO HIGH  
TEMPERATURE AND DROUGHT**

RADENOVIĆ, Č., DRINIĆ, G., FILIPOVIĆ, M., JOVANOVIĆ, Ž.,  
MLADENOVIĆ-DRINIĆ SNEŽANA, RADOJČIĆ, A.

**SUMMARY**

The delayed chlorophyll fluorescence method, as a non-invasive bioluminescence method, is recommended for the application in maize breeding and seed production in order to evaluate maize inbred lines for their resistance and adaptability to increased and high temperatures, as well as, to drought.

The following thermal properties of the photosynthetic apparatus of the observed maize inbred lines: the temperature dependence within a range of 25-60°C, critical temperatures at which phase transitions occur in the thylakoid membrane were discovered and by means of it significant functional changes in the photosynthetic apparatus of observed maize inbred lines were detected. activation energies ( $E_a$ ,  $\text{kJ mol}^{-1}$ ) alongside the straight lines prior and after critical temperatures were calculated.  $E_a$  are a measure of occurrence of chlorophyll DF recombination processes and by that a measure of the total changes in structure and functioning of the thylakoid membranes.

Thylakoid membranes underwent significant conformational changes in the part following the maximum intensity, i.e. in the part of its sharp linear decline. Such a state fits more to a non-living than a living organism in relation to its both, structure and functions.

Results and the discussion of presented parameters of total thermal processes of chlorophyll DF, such as: temperature dependence, critical temperatures and activation energy, can be an important factor for a more exact characterisation of maize inbred lines in relation to their resistance and adaptation to temperature and drought, contributing to a rapider and more rational development of the selection process.

*Key words:* maize inbred lines, thylakoid membrane, photosynthetic and thermal process, delayed fluorescence, resistance and adaptability