

*На правах рукописи*



**ТАЛАНОВА-ШЭР**  
**Татьяна Юрьевна**

**ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ РАСТЕНИЙ  
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ  
НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ**

03.00.12 - физиология и биохимия растений

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Петрозаводск  
2004

Работа выполнена на кафедре ботаники и физиологии растений  
Петрозаводского государственного университета

Научный руководитель: доктор биологических наук,  
профессор  
Марковская Евгения Федоровна

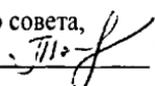
Официальные оппоненты: доктор биологических наук  
Чернобровкина Надежда Петровна  
  
кандидат биологических наук  
Лукьянова Людмила Моисеевна

Ведущая организация: Институт фундаментальных  
проблем биологии РАН

Защита состоится «8» декабря 2004 г. в 14 час. 15 мин. на заседании  
Диссертационного совета К 002.035.01 по присуждению ученой степени  
кандидата биологических наук в Институте биологии Карельского  
научного центра РАН по адресу: 185910, Республика Карелия,  
г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11, тел. (8142) 769810, факс (8142)  
769810.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Карельского научного  
центра РАН.

Автореферат разослан «3» ноября 2004 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета,  
кандидат биологических наук \_\_\_\_\_  Топчиева Л. В.

919564.

2005-1

20669

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Интерес к механизмам реакции фотосинтетического аппарата в условиях действия неблагоприятных факторов огромен. Особенно это касается функционирования защитных, в том числе антиоксидантных, систем (Krinsky, 1966; Lichtenthaler, Schindler, 1992; Schubert et al., 1994; Tausz et al., 1999, 2001; Baroli et al., 2002; Muller-Mouille et al., 2003 и др.). Одной из этих систем является открытый в 1957 г. виолаксантиновый цикл (Сапожников и др., 1957), функциональной активности которого посвящено большое число обзорных работ (Sieferman-Harms, 1977; Yamamoto, 1979; Hager, 1980; Demmig-Adams, Adams, 1992; Pfundel, Bilger, 1994; Маслова и др., 1996; Gilmore, 1997; Young et al., 1997; Niyogi et al., 1998, 1999; Havaux, Niyogi, 1999; Demmig-Adams et al., 1999; Frank, 2000; Gilmore, Ball, 2000; Muller et al., 2001; Ладыгин, 2002; Govindjee, 2002; Oquist, Huner, 2003 и др.). Значительный вклад в эти разработки внесли исследования с использованием генетически модифицированного материала (Runge, 1995; Dauborn, Bruggemann, 1998; Hartel, Grimm, 1998; Ладыгин, 1998; Havaux et al., 2000; Niyogi et al., 2001; Govindjee, 2002; Elrad et al., 2002; Walters et al., 2003; Peng, Gilmore, 2003; Jin et al., 2003; Havaux et al., 2004 и др.).

Однако при всех блестящих работах на молекулярно-генетическом уровне остается много нерешенных проблем на уровне организма и тех физиологических механизмов, которые обеспечивают включение защитных реакций и их функционирование в различных условиях среды. Особое внимание в современной литературе уделяется проблеме влияния на растение неблагоприятных климатических условий и факторов антропогенной природы. Насколько универсальны те системы, которые природа вложила в растительные организмы для реакции на природные факторы, и как они будут справляться с антропогенным воздействием? Этот вопрос остается открытым.

**Цель и задачи исследований.** Целью данной работы явилось сравнительное изучение фотосинтетического аппарата и механизмов его адаптации у хвойных древесных и травянистых злаковых растений при действии неблагоприятных природных и антропогенных факторов. Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- изучить роль пигментов виолаксантинового цикла в защите фотосинтетического аппарата *Picea abies* L. при действии низких отрицательных температур и высокого уровня освещенности в зимний период;

- исследовать содержание фотосинтетических пигментов и биометрические показатели листа (хвойн) и древесины хвойных (*Picea*)



*abies* L. и *Pinus sylvestris* L.) и травянистого злака *Festuca pratensis* Huds. в условиях антропогенного загрязнения;

- изучить активность фотосинтетического аппарата *Triticum aestivum* L. при действии низких и высоких закаливающих температур, а также при отрицательной температуре и различном уровне освещенности;

- исследовать содержание пигментов и активность фотосинтетического аппарата контрольной (сорт Карельская) и мутантных линий *Festuca pratensis* Huds., обладающей хлорофиллдефектностью в условиях высокой температуры.

**Научная новизна.** Впервые показана функциональная активность пигментов виолаксантинового цикла у древесных хвойных растений в условиях суровых зим североатаежной зоны при быстрых изменениях погоды - оттепель и мороз, сопряженный с высокой освещенностью.

Впервые дана физиологическая характеристика фотосинтетического аппарата (по содержанию пигментов, интенсивности фотосинтеза, параметрам переменной флуоресценции Хл *a* и спектрам излучения ФС I и II при 77 К) температурозависимых хлорофиллдефектных фенотипов контрольной и мутантных линий *Festuca pratensis* Huds.

**Практическая значимость.** Полученные экспериментальные данные дополняют и расширяют современные представления об адаптивных возможностях фотосинтетического аппарата древесных хвойных и травянистых злаковых растений при действии неблагоприятных природных и антропогенных факторов и могут быть использованы при чтении базового курса и спецкурсов по физиологии растений в вузах.

Результаты исследования фотосинтетического аппарата двух видов хвойных в условиях слабого и сильного загрязнения могут быть использованы в экологическом мониторинге.

**Апробация работы.** Материалы диссертации были представлены на VI Молодежной конференции ботаников (Санкт-Петербург, 1997), Международном симпозиуме «Ответ растений на молекулярном уровне на биотический и абиотический стрессы» (Хельсинки, Финляндия, 1997), Н(Х) съезде Русского ботанического общества «Проблемы ботаники на рубеже XX-XXI веков» (Санкт-Петербург, 1998), 6-й Молодежной научной конференции «Актуальные проблемы биологии и экологии» (Сыктывкар, 1999), Международной конференции «Биологические основы изучения, освоения и охраны животного и растительного мира, почвенного покрова восточной Фенноскандии» (Петрозаводск, 1999), IX Международном симпозиуме по новым кормовым растениям «Экологи-

популяционный анализ кормовых растений естественной флоры, интродукция и использование» (Сыктывкар, 1999), Международной конференции «Физиология растений - наука III тысячелетия» в рамках IV съезда Общества физиологов растений России (Москва, 1999), научно-методической конференции «Физиологические аспекты продуктивности растений» (Орел, 2004).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 15 научных работ, в том числе 3 статьи.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Работа изложена на 155 страницах текста, содержит 7 таблиц, 42 рисунка. Список литературы включает 344 источника, из них - 274 иностранных авторов.

### ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние низкой температуры и высокой освещенности зимой на фотосинтетический аппарат *Picea abies* L. В хвое ели 1-го и 2-го года жизни в естественных условиях г. Петрозаводска (Карелия) и г. Хельсинки (Финляндия) была определена сезонная динамика содержания пигментов спектрофотометрическим методом (Arnon, 1949; Шлык, 1968; Маслова и др., 1986), а также содержание каротиноидов в осенне-весенний период методом тонкослойной хроматографии (Хагер, 1957 в модификации Корнюшенко, Сапожникова, 1969). В течение зимнего периода определялся общий пигментный состав, фракционный состав каротиноидов и параметры переменной флуоресценции с использованием РАМ (Shreiber et al., 1986; Somersalo, Krause, 1990) в условиях быстрого изменения температуры «оттепель - мороз», сопряженной с высокой освещенностью.

Влияние загрязнения на состояние фотосинтетического аппарата *Picea abies* L. и *Pinus sylvestris* L. В хвое 1-3-го года жизни ели и сосны, произрастающих на разном расстоянии от Мончегорского медно-никелевого комбината (Кольский полуостров), были определены биометрические характеристики хвои, общее содержание пигментов и фракционный состав каротиноидов. В хвое 1-6-го года жизни сосны, произрастающей на разном расстоянии от Костомукшского ГОКа (Карелия), было определено общее содержание пигментов. Образцы хвойных растений были собраны в составе экспедиции Института леса КарНЦ РАН и частично предоставлены сотрудниками Института леса. В хвое 1-го и 2-го года жизни ели, произрастающей в г. Петрозаводске (Карелия), были определены биометрические характеристики (Тиррен,

1927; Методические указания..., 1970), общее содержание пигментов, фракционный состав каротиноидов.

Изучение активности фотосинтетического аппарата *Triticum aestivum* L. при действии низких и высоких закаливающих температур, а также отрицательных температур и модифицирующем влиянии освещенности. Проростки пшеницы выращивали в течение 7 дней в рулонах фильтровальной бумаги в ростовых камерах при температуре +25 °С, влажности 60%, освещенности 100 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>, фотопериод 16 часов. В первом эксперименте недельные проростки пшеницы были подвергнуты воздействию низкой (+2 °С) и высокой (+35 °С) закаливающих температур при освещенности 150 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. После 5 дней воздействия растения были перенесены в нормальные условия (+25 °С) на 3 дня для восстановления. Эксперимент с воздействием отрицательной повреждающей температуры (-2 °С) проводился в комбинации с различным световым режимом (темнота, 150 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>, 400 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>). Проведено определение интенсивности фотосинтеза и параметров переменной флуоресценции.

Оценка состояния фотосинтетического аппарата природных популяций *Festuca pratensis* Huds. в городе Петрозаводске. У овсяницы были определены биометрические характеристики (Классификатор семейства Роаса, 1974) и общее содержание пигментов.

Характеристика фотосинтетического аппарата контрольной и мутантных линий *Festuca pratensis* Huds., обладающей температурозависимой хлорофиллдефектностью. Семена контрольной линии сорта Карельской овсяницы луговой и М<sub>3</sub> потомств линий, полученных с использованием различных мутагенов в лаборатории генетики Института биологии КарНЦ РАН (Лебедева, 1994), были любезно предоставлены для исследования. Семена проращивали между двумя слоями влажной фильтровальной бумаги в ростовых камерах при температуре +25 или +35 °С, влажности 60%, круглосуточном освещении (100 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с) в течение 10 дней. При температуре +35 °С были выявлены температурозависимые хлорофиллдефектные фенотипы, различающиеся по окраске листа. Фотосинтетический аппарат фенотипа *notha* - зеленый (+25 и +35 °С) и хлорофиллдефектных (*viridis* - светло-зеленый, *xantha-viridis* - желто-зеленый, *xantha* - желтый) фенотипов (+35 °С) контрольной и мутантных линий охарактеризован следующими показателями: общее содержание пигментов, фракционный состав каротиноидов, интенсивность фотосинтеза (по выделению кислорода, Somersalo, Krause, 1989), параметры переменной флуоресценции (при комнатной температуре) и спектры излучения ФС I и II (при 77 К). Общее содержание пигментов определяли в течение вегетации в полевой

коллекции восстановленных при +25 °С и клонированных в полевых условиях фенотипов.

Оценка достоверности различий в лабораторных экспериментах проводилась с помощью непараметрического критерия оценки (t-тест). Достоверность полученного результата оценивалась с помощью t-критерия, с учетом объема сравниваемых совокупностей и порога доверительной вероятности 0,95.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### 1. Фотосинтетический аппарат хвойных растений под воздействием различных неблагоприятных факторов

**1.1. Состояние фотосинтетического аппарата *Picea abies* L. в условиях зимнего стресса (условия низкой температуры и высокой освещенности).** Анализ сезонной динамики содержания фотосинтетических пигментов показал, что снижение содержания пигментов происходит в период перехода к ростовому покою и задолго до наступления морозного периода, что приводит к снижению фотосинтетической активности хвойных и рассматривается как адаптация к зимним условиям (Новицкая, 1971; Adams, Demmig-Adams, 1994; Ottander et al., 1995; Vogg et al., 1998; Garcia-Plazaola, 1999). Показано, что зимой в условиях резкого перепада температур «мороз - оттепель» общее содержание Хл *a* и *b* и суммы каротиноидов не меняется (рис. 1), но отмечаются изменения в концентрации отдельных каротиноидов.

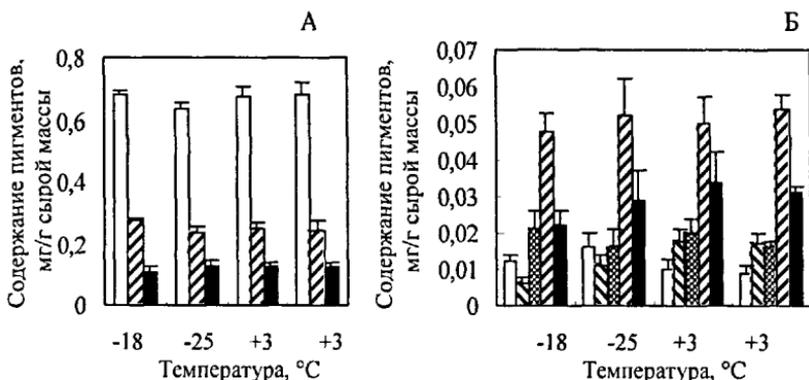


Рис. 1. Содержание пигментов в хвое *Picea abies* L. в условиях быстрых колебаний температуры и освещенности в зимний период.

А: хлорофилл *a* (□), хлорофилл *b* (▨), каротиноиды (■);

Б: зеаксантин (□), виолаксантин (▨), неоксантин (▣)

лютеин + антераксантин (▤), каротин (■)

Так, в ясные морозные дни увеличивается содержание зеаксантина (в среднем на 50%), а виолаксантина снижается на 47%. В последующие оттепели наоборот: содержание виолаксантина увеличивается, а зеаксантина уменьшается. Это дает основание предположить работу виолаксантинового цикла в условиях суровой зимы.

Параллельное определение параметров флуоресценции (рис. 2) показало при низких температурах уменьшение максимальной флуоресценции ( $F_m$ ) хлорофилла, квантовой эффективности транспорта электронов в ФС II ( $F_v/F_m$ ) и двукратное уменьшение скорости выделения кислорода (151,6 и 160,2  $\mu\text{моль O}_2/\text{мг хл}^*\text{час}$  в периоды оттепели по сравнению с 72,8 и 70,2  $\mu\text{моль O}_2/\text{мг хл}^*\text{час}$  в морозные периоды). Этот результат свидетельствует об ингибировании фотохимических реакций фотосинтеза, происходящем одновременно с увеличением тушения флуоресценции хлорофилла, и, в сочетании с увеличением содержания зеаксантина, дает основание предполагать, что в этих условиях активизированы реакции, связанные с нефотохимическим путем тушения возбужденного хлорофилла, и зеаксантин может участвовать в этом процессе.

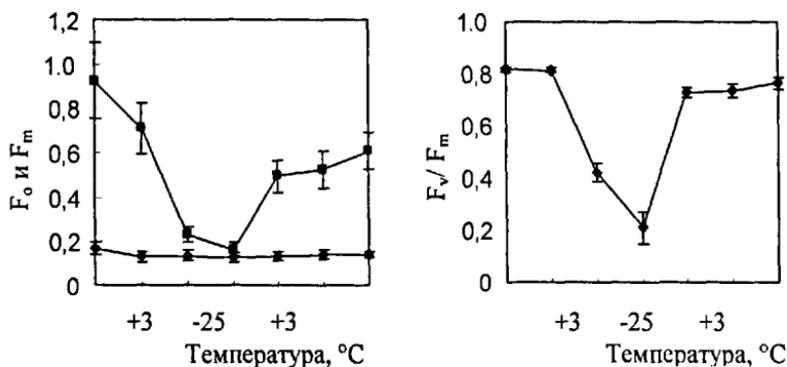


Рис. 2. Параметры флуоресценции –  $F_o$ ,  $F_m$  и отношение  $F_v/F_m$  у хвои *Picea abies* L. в условиях быстрых колебаний температуры и освещенности в зимний период;  $F_o$  (◆),  $F_m$  (■)

Особый интерес представляет постоянство начальной флуоресценции ( $F_o$ ). В. Адаме и Б. Деммиг-Адамс (Adams, Demmig-Adams, 1994), так же как и С. Оттандер с сотрудниками (Ottander et al., 1995), обнаружили, что тушение в светособирающих (антенных) комплексах, связанное с зеаксантином, должно приводить к тушению начальной флуоресценции ( $F_o$ ). Отсутствие ее изменений в наших опытах означает, что имеет место безизлучательное рассеивание энергии из

реакционных центров ФС II, которое приводит к снижению  $F_m$ , но не  $F_o$ , и оно не связано с зеаксантином. Этот результат похож на кратковременный эффект, ранее описанный для травянистых при холодовом воздействии (Krause et al., 1990; Somersalo, Krause, 1990; Hurry, Huner, 1992). Таким образом, проведенное исследование дает основание предполагать наличие двух механизмов защиты фотосинтетического аппарата: тушение избытка поглощенной световой энергии в светособирающих комплексах с участием пигментов ксантофиллового цикла и тушение самими реакционными центрами.

### 1.2. Состояние фотосинтетического аппарата *Picea abies* L. и *Pinus sylvestris* L. в условиях антропогенного загрязнения.

*Picea abies* L. и *Pinus sylvestris* L. в зоне действия Мончегорского комбината Проведенные исследования показали, что по мере приближения к источнику загрязнения происходит уменьшение биометрических характеристик хвои и нарушается их годичная динамика. Подобный эффект обнаружен в исследованиях В. Т. Ярмишко (1997), Т. П. Астафуровой и др. (1999). Различия в изменении показателей более достоверны для *Picea abies* L., что свидетельствует о большей чувствительности хвои ели к загрязнению (Кайбияйнен, 1994, 1995). Исследование изменений содержания фотосинтетических пигментов в хвое *Pinus sylvestris* L. показало тенденцию к снижению содержания хлорофиллов и увеличению суммы каротиноидов ближе к комбинату (рис. 3).

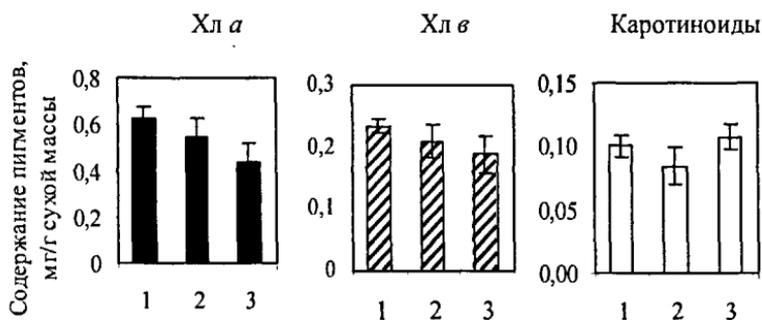


Рис. 3. Содержание пигментов в зависимости от удаленности от источника загрязнения в хвое *Pinus sylvestris* L.

1 - контроль (60 км), 2 - заповедник (30 км), 3 - 12 км от комбината

Аналогичные данные имеются и в литературе (Гетко, 1989; Lichtenthaler, Rinderle, 1989; Барахтенова, Николаевский, 1993; Saarinen, 1993; Кирпичникова и др., 1995). Изучение фракционного состава

каротиноидов показало, что увеличение их суммы происходит за счет содержания всех ксантофиллов (рис. 4, показан только зеаксантин). Сходные данные получены и для *Picea abies* L. В литературе разрабатывается гипотеза о защите фотосинтетического аппарата с участием каротиноидов в условиях загрязнения (Calatayud et al., 1999). Результаты нашего исследования дают основание поддержать гипотезу об участии ксантофиллов в нефотохимическом тушении флуоресценции хлорофилла в условиях загрязнения.

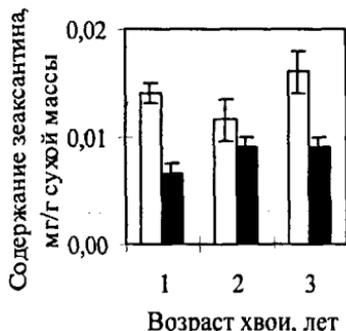


Рис. 4. Содержание зеаксантина в хвое *Pinus sylvestris* L., произрастающей вблизи источника загрязнения (12 км, □) и в контрольных условиях (60 км, ■)

Для *Pinus sylvestris* L. в зоне влияния Костомукшского ГОКа и для *Picea abies* L., произрастающей в различных по уровню загрязнения районах города Петрозаводска, также отмечено небольшое увеличение содержания каротиноидов. Лабильность содержания пигментов не позволила получить более точные данные, которые, по-видимому, требуют стационарных исследований.

## 2. Фотосинтетический аппарат злаковых растений под воздействием различных неблагоприятных факторов

### 2.1. Фотосинтетический аппарат *Triticum aestivum* L. cult. Ромо под воздействием различной температуры и освещенности.

При воздействии низкой положительной температуры (+2 °C) на проростки пшеницы скорость выделения кислорода ( $21,38 \pm 4,14$  и  $21,75 \pm 4,51$  ммоль  $O_2$ / г. сыр. массы в мин. до опыта и после 5 дней воздействия соответственно), уровень начальной ( $F_0$ ) и максимальной флуоресценции ( $F_m$ ) и активность ФС II ( $F_v/F_m$ ), так же как и значение коэффициента нефотохимического тушения ( $qN$ ), не изменялись. Эти данные свидетельствуют об околооптимальном функционировании фотосинтетического аппарата в условиях опыта. Увеличение значения фотохимического тушения ( $qP$ ) (с 0,09 до 0,15 к концу опыта и затем до 0,24 в последствии) сопровождалось некоторым запаздыванием в увеличении интенсивности фотосинтеза. Поэтому можно предположить,

что такие специальные защитные механизмы, как рассеивание энергии в РЦ ФС II или зеаксантинзависимое тушение флуоресценции, не были активными у пшеницы в проведенном опыте по холодовому закаливанию. Это подтверждает, что травянистые растения стремятся к наиболее успешной функциональной адаптации к действию низких температур с наименьшими потерями в интенсивности фотосинтеза.

Сходный характер изменений исследуемых показателей отмечался и при воздействии высокой температуры. Однако некоторое снижение максимальной флуоресценции ( $F_m$ ), которое не сопровождалось уменьшением начальной ( $F_o$ ), может свидетельствовать о подключении в этих условиях защитных механизмов с участием самих реакционных центров ФС II, рассеивающих избыточную энергию.

При воздействии отрицательной повреждающей температуры ( $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) на *Triticum aestivum* L. в комбинации с различным световым режимом (темнота, умеренное -  $150\text{ мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$  и интенсивное -  $400\text{ мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$  освещение) реакция растений зависела от условий освещения (рис. 5).

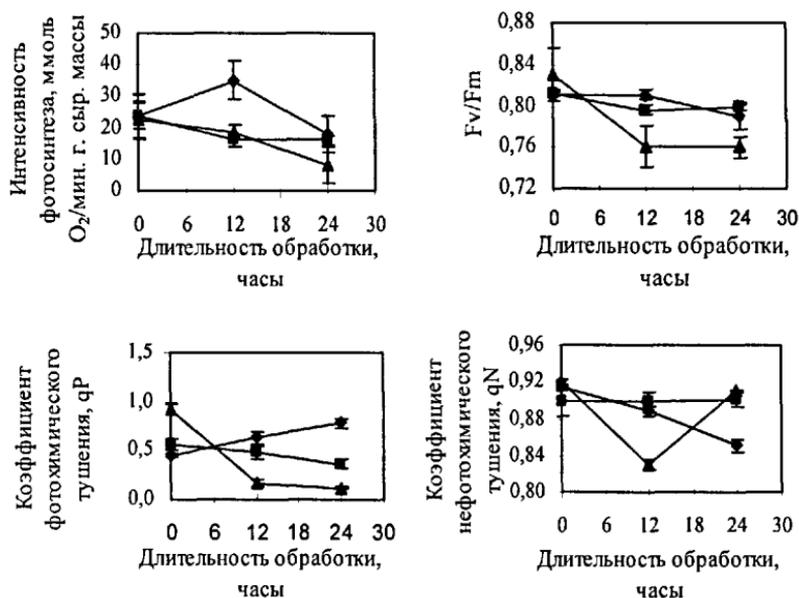


Рис. 5. Интенсивность фотосинтеза, отношение  $F_v/F_m$  и коэффициенты тушения у *Triticum aestivum* L. в условиях низкой температуры и различных уровней освещенности. Темнота (◆), свет умеренной (■) и высокой интенсивности (▲)

В последствии темноты в течение 12 часов отмечалось увеличение интенсивности фотосинтеза и фотохимического тушения, в то время как нефотохимическое тушение уменьшалось (рис. 5). Фотохимическая активность ФС II ( $F_v/F_m$ ) (или квантовая эффективность транспорта электронов в ФС II) не изменялась. После 24 часов воздействия интенсивность фотосинтеза снижалась. При высокой освещенности интенсивность фотосинтеза с увеличением времени обработки падала (рис. 5) и этот процесс сопровождался некоторым снижением активности ФС II ( $F_v/F_m$ ) и уменьшением фотохимического ( $qP$ ) и нефотохимического тушения ( $qN$ ) к 12 часам с их последующей стабилизацией ( $qP$ ,  $F_v/F_m$ ) либо возвращением к исходному до обработки уровню ( $qN$ ).

Увеличение интенсивности фотосинтеза через 12 часов в последствии темноты можно объяснить активизацией в этих условиях метаболических процессов, для формирования которых необходима энергия. Когда пределы адаптационной возможности пшеницы были превышены (после 24 часов), наступило ингибирование. В условиях длительного воздействия низких температур при высокой освещенности снижение отношения  $F_v/F_m$  и увеличение коэффициента нефотохимического тушения может быть связано с работой ксантофиллов.

2.2. Характеристика фотосинтетического аппарата естественных популяций *Festuca pratensis* Huds., произрастающих на территории г. Петрозаводска. Морфологический анализ злака не выявил существенных изменений биометрических характеристик под воздействием загрязнения. В начале вегетационного периода в этих условиях происходит значительное ингибирование скорости синтеза пигментов, затем синтез Хл *a* восстанавливается и достигает величин чистых местообитаний. Хл *b* повреждается в большей степени. Таким образом, характер этих изменений отличается от особенностей, обнаруженных у хвойных растений. Овсяница является устойчивым к загрязнению видом (Илькун, 1971; Барахтенова, Николаевский, 1988), фонд пигментов которых ниже, чем у неустойчивых.

2.3. Характеристика фотосинтетического аппарата контрольной и мутантных линий *Festuca pratensis* Huds. Анализ пигментного состава фенотипа *погта* во всех мутантных линиях по сравнению с контролем показал, что в условиях температурного оптимума (+25°) отмечается снижение содержания Хл *b* (до 50%) (рис. 6). Это может свидетельствовать о деградации ССК ФС II. Содержание Хл *a* уменьшилось на 20% только в одном варианте ( $M_3$  потомстве растений,

обработанных этилметансульфонатом). Достоверных изменений общего содержания каротиноидов не отмечается.

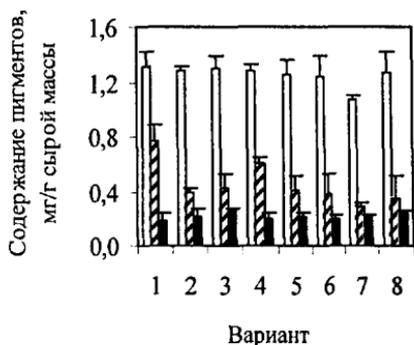


Рис. 6. Содержание пигментов в *Festuca pratensis* Huds. (+25 °C). 1 – контроль, 2–8 – варианты  $M_5$  потомства растений, обработанных: 2 – ЭИ, 3 –  $\gamma$ -радиация, 4 –  $\gamma$ -радиация + ЕИ, 5 –  $\text{NaN}_3$ , 6 –  $\gamma$ -радиация +  $\text{NaN}_3$ , 7 – ЭМС, 8 –  $\gamma$ -радиация + ЭМС; Хл a (□), Хл b (▨), каротиноиды (■)

Анализ результатов по определению интенсивности фотосинтеза определенной закономерности не выявил (табл.), но наиболее высокие значения отмечаются в вариантах ЭМС,  $\gamma$ -радиация + ЭМС и наименьшие в контроле и варианте  $\gamma$ -радиация + ЭИ. Достоверных различий по показателям флуоресценции ( $F_v/F_m$  - активность ФС II и  $qN$  - коэффициент нефотохимического тушения) между вариантами нет. Исследования при 77 К показали нормальную форму спектра (наличие пиков ФС I и II), что свидетельствует о функциональной активности обеих фотосистем.

Интенсивность фотосинтеза (ммоль  $\text{O}_2$ / г сырой массы в мин), квантовая эффективность ФС II ( $F_v/F_m$ ) и коэффициент нефотохимического тушения  $qN$  проростков контрольной и  $M_5$  потомств мутантных линий *Festuca pratensis* Huds., выращенных в условиях температурного оптимума (25 °C)

Потомства	$F_v/F_m$	$qN$	Фотосинтез
Контроль	$0,774 \pm 0,024$	$0,884 \pm 0,034$	$23,57 \pm 3,35$
$\gamma$ -радиация	$0,740 \pm 0,058$	$0,848 \pm 0,021$	$27,05 \pm 1,82$
$\gamma$ -радиация + ЭИ	$0,809 \pm 0,011$	$0,867 \pm 0,088$	$19,40 \pm 3,78$
ЭИ	$0,791 \pm 0,031$	$0,851 \pm 0,044$	$30,58 \pm 4,40$
$\text{NaN}_3$	$0,738 \pm 0,050$	$0,841 \pm 0,009$	$25,95 \pm 3,74$
$\gamma$ -радиация + $\text{NaN}_3$	$0,729 \pm 0,074$	$0,856 \pm 0,037$	$29,87 \pm 4,23$
ЭМС	$0,756 \pm 0,038$	$0,872 \pm 0,040$	$32,80 \pm 1,80$
$\gamma$ -радиация + ЭМС	$0,768 \pm 0,032$	$0,835 \pm 0,074$	$32,35 \pm 6,80$

Таким образом, выращенные при +25 °С образцы не показали различий по исследуемым параметрам фотосинтетического аппарата.

Овсяница луговая (как контрольная, так и мутантные линии) обладает хлорофиллдефектностью, индуцируемой высокой температурой (Лебедева, 1994). Для изучения состояния ассимиляционного аппарата при действии субоптимальной высокой температуры (+35 °С) были выбраны три мутантные линии: ЭИ,  $\gamma$ -радиация  $\gamma$ -радиация + ЭИ и контроль. Из выявленных по методу визуальной оценки (Орав, Калам, 1974) фенотипов с разной степенью хлорофиллдефектности, для последующего анализа были выбраны: *norma*, *viridis*, *xantha-viridis* и *xantha*.

Обнаружено, что при высокой температуре содержание всех пигментов фенотипа *norma* было почти в два раза ниже, чем у проростков, выращенных при оптимальной температуре. Однако если в контроле количество Хл *a* и *b* и суммы каротиноидов уменьшается от фенотипа *norma* до *xantha*, то в мутантных линиях эта закономерность нарушается. Визуально более депигментированному фенотипу *xantha-viridis* соответствует большее содержание пигментов, чем в фенотипе *viridis* (рис. 7).



Рис. 7. Содержание пигментов в проростках *Festuca pratensis* Huds., выращенной в условиях температурной нагрузки (+35 °С). 1 – контроль; 2 –  $\gamma$ -радиация + ЭИ; 3 – ЭИ; 4 –  $\gamma$ -радиация. Фенотипы (тип депигментации): *norma* (□), *viridis* (▨), *xantha-viridis* (▩), *xantha* (■)

Часть растений *Festuca pratensis* Huds. после высокотемпературной обработки была перенесена для восстановления в условия температурного оптимума. Содержание пигментов в процессе восстановления уменьшается, и это соответствует ранее установленной закономерности, выраженной в снижении количества пигментов от фенотипа *norma* к *xantha*. Это может свидетельствовать об избыточном количестве пигментов в условиях температурной нагрузки.

Анализ фракционного состава каротиноидов показал, у всех исследованных линий хлорофиллдефектный фенотип *xantha* имел высокое относительное содержание зеаксантина, а у мутантных линий, в отличие от контроля, отмечается отсутствие двух ксантофиллов - виолаксантина и неоксантина (рис. 8, ЭИ-линия).

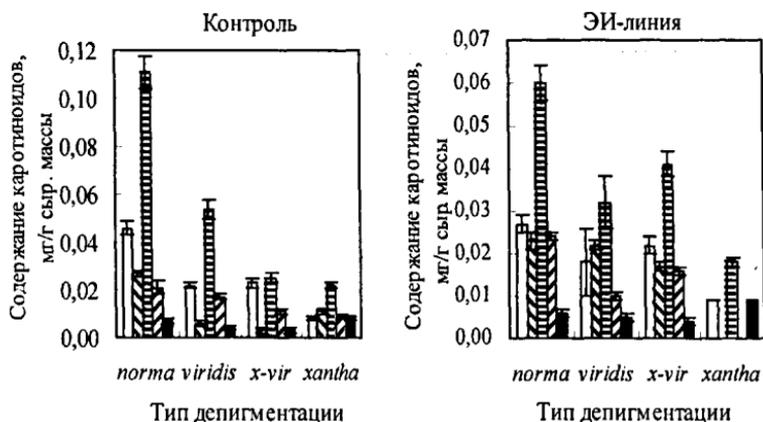


Рис. 8. Фракционный состав каротиноидов в проростках *Festuca pratensis* Huds., выращенных в условиях температурной нагрузки.

Фенотипы: *norma*, *viridis*, *x-vir* – *xantha-viridis*, *xantha*, каротин (□), виолаксантин (▨), лютеин + антераксантин (▧), неоксантин (▩), зеаксантин (■)

Анализ данных флуоресценции при 77 К показал изменение формы спектра как у контрольной, так и у мутантных линий, что свидетельствует о нарушениях в ФС I.

Исследование начальной флуоресценции  $F_0$ , приписываемой ССК ФС II, показало ее возрастание от фенотипа *norma* к фенотипу *xantha-viridis* у всех исследованных линий, за исключением контрольной и  $\gamma$ -радиация + ЭМС линий (рис. 9, показаны контрольная и ЭИ-линии). Это характерный признак повреждения ЭТЦ хлоропластов высокой (+35 °C) температурой, которое приводит к изменению конформационных свойств

белков и, как следствие, к разобшению антенных комплексов от РЦ ФС II и снижению улавливающей способности РЦ (рис. 9). Резкое падение  $F_0$  в фенотипе *xantha* свидетельствует уже о патологии ССК, хотя заексантинзависимое тушение, которое, как известно, снижает значения  $F_0$ , тоже может быть задействовано. От фенотипа *norma* до *viridis* отмечается падение отношения  $F_v/F_m$  (показатель фотохимической активности ФС II), что свидетельствует о снижении активности ФС II. Интенсивность нефотохимического тушения снижается от *norma* к *xantha*, за исключением контрольного образца, где оно выше у *xantha-viridis*, и достигает минимальных значений в фенотипе *xantha*.

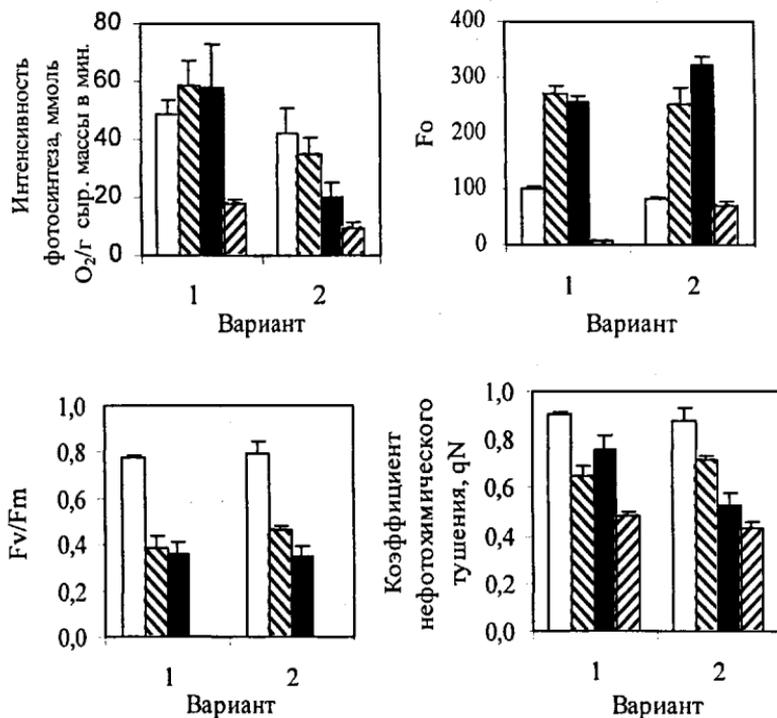


Рис. 9. Интенсивность фотосинтеза, параметры флуоресценции ( $F_0$  и  $F_v/F_m$ ) и коэффициент нефотохимического тушения ( $qN$ ) проростков контрольной линии и  $M_5$  потомства ЭИ-линии *Festuca pratensis* Huds., выращенных в условиях температурной нагрузки (+35 °C). 1 – контроль, 2 –  $M_5$  потомство ЭИ-линии (этиленимин); *norma* (□), *viridis* (▨), *xantha-viridis* (▧), *xantha* (■)

Таким образом, выявлены следующие закономерности:

- У фенотипа *norma* не отмечены отклонения по параметрам ( $F_o$  и  $F_v/F_m$ ) флуоресценции и коэффициентам тушения флуоресценции от значений, полученных у других видов растений.

- У фенотипа *xantha-viridis* отмечается увеличение свечения ССК (о чем свидетельствует высокое значение  $F_o$ ), которое сопровождается снижением эффективности фотохимических реакций и снижением уровня нефотохимического тушения. Это может происходить либо только за счет увеличения содержания пигментов и именно в ССК (результаты исследования содержания пигментов), либо и за счет частичного разобщения ССК от РЦ и снижения улавливающей способности РЦ ФС (подтверждается эмиссионными спектрами при 77 К).

- У фенотипа *xantha* отмечены минимальные значения поглощения света за счет резкого снижения содержания пигментов. Однако значения коэффициента нефотохимического тушения и высокое относительное содержание зеаксантина дают основание предположить защитную роль зеаксантина в рассеивании этой поглощенной энергии, так как и минимальный ее уровень может быть повреждающим для этого хлорофиллдефектного (т.е. желтого) фенотипа.

Сопоставление отдельных линий показало, что параметры переменной флуоресценции у фенотипа *norma* в контроле и у всех линий одинаковы, а некоторые различия отмечены по хлорофиллдефектным фенотипам. Так, согласно полученным результатам, у фенотипа *xantha-viridis* контрольной линии увеличение  $qN$ , наряду с уменьшением  $F_o$  и  $F_v/F_m$ , может свидетельствовать о роли зеаксантина в термическом рассеивании энергии из ССК. Попытка интерпретации результатов по фенотипам отдельных линий дает основание предположить, что все они имеют определенный набор защитных механизмов и есть некоторые различия в степени их активации.

Исследование фотосинтетической активности депигментированных фенотипов контрольной и мутантных линий *Festuca pratensis* Huds. в условиях повышенной температуры показало ее ингибирование.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, рассмотренные нами механизмы (работа виолаксантинового цикла и его отдельных пигментов, усиление фотохимической активности, снижение улавливающей способности реакционных центров фотосистемы II и превращение их в гасители энергии, разобщение антенных комплексов от РЦ) включаются в систему защитных реакций растений в ответ на действие неблагоприятных условий. Физиологические защитные реакции от фотоингибирования

древесных и травянистых растений имеют как общие черты, так и различия. Так, изучение фотосинтетического аппарата *Picea abies* L. в условиях быстрых колебаний температуры в зимний период показало, что этот вид обладает системой быстрых ответных реакций, обеспечивающих сохранность ассимиляционного аппарата в условиях низкой температуры и высокой освещенности зимой. В эту систему могут входить пигменты виолаксантинового цикла (Demmig, Bjorkmann et al., 1987; Demmig-Adams, 1990; Demmig-Adams, 1994). Ранее этот феномен был показан в условиях более мягких зим (Adams, Demmig-Adams, 1994; Vogg et al., 1998; Garcia-Plazaola et al., 1999; Leher, Lutz, 2003; Close et al., 2003; Han et al., 2004), а в настоящей работе он подтвердился и для условий суровой зимы. Полученные данные позволяют предположить участие у хвойных растений другого механизма - безизлучательного рассеивания энергии реакционными центрами ФС II. Этот эффект описан ранее для травянистых растений в условиях низких температур (Krause et al., 1990; Somersalo, Krause, 1990; Hurry, Huner, 1992; Miiller et al., 2003; Prafullachandra et al., 2003; Ivanov et al., 2003). Структурно-функциональные перестройки фотосинтетического аппарата, происходящие в период подготовки к зимнему покою (Senser et al., 1975; Martin, 1979; Oquist, 1982; Senser, Beck, 1982; Ottander et al., 1995; Gilmore, Ball, 2000; Oquist, Huner, 2003), являются более долговременными по сравнению с работой быстрообратимого ксантофиллового цикла.

Если стратегия хвойных заключается в снижении фотосинтетической активности в зимний период и защите ассимиляционного аппарата от деструкции, то травянистые растения стремятся к наиболее успешной функциональной адаптации к действию низких температур с «наименьшими потерями» в интенсивности фотосинтеза, что и было обнаружено в опыте по действию низкой закалывающей температуры на *Triticum aestivum* L. Результат воздействия отрицательных температур зависел от уровня освещенности. Так, в условиях высокой освещенности у травянистых растений в защиту фотосинтетического аппарата был вовлечен и виолаксантиновый цикл.

Сравнительный анализ результатов, полученных по *Picea abies* L. и *Triticum aestivum* L. в условиях низкой температуры и избыточной освещенности, дает основание предположить существование принципиально схожих механизмов защиты (работа виолаксантинового цикла, рассеивание энергии РЦ). Однако их проявление, степень последовательности и согласованности, а также скорость их активации зависят от внешних условий и внутреннего состояния растения.

Данные по влиянию загрязнения на различные параметры, характеризующие состояние фотосинтетического аппарата, показали, что увеличение содержания каротиноидов, которое отмечается в литературе (Salataud et al., 1999) и получено в наших опытах, свидетельствует в пользу гипотезы о функциональной роли пигментов виолаксантинового цикла, которая может быть связана с их защитной, антиоксидантной функцией.

При работе с хлорофиллдефектными фенотипами контрольной и мутантных линий овсяницы показано, что жизнеспособность этих фенотипов в природе, возможно, связана с различными механизмами защиты фотосинтетического аппарата (работа виолаксантинового цикла, разобщение антенных комплексов от РЦ).

Развитие и активация защитных антиоксидантных механизмов являются частью сложной системы регуляции фотосинтеза в различных неблагоприятных условиях среды. Множественность механизмов защитных реакций обуславливает повышение устойчивости фотосинтетического аппарата.

## ВЫВОДЫ

1. Установлена активность пигментов виолаксантинового цикла у *Picea abies* L. в условиях суровых зим: при низких отрицательных температурах и высоком уровне освещенности. Предположен дополнительный механизм, связанный с рассеиванием излишней энергии из реакционных центров ФС II.

2. Установлены механизмы фотоингибирования и защиты у *Triticum aestivum* L. под воздействием низких и высоких закалывающих температур и кратковременном воздействии низких повреждающих температур, которые изменяют фотохимическую активность реакционных центров фотосистемы II с участием пигментов виолаксантинового цикла. Их проявление зависит от времени и силы воздействия фактора.

3. Обнаружено стимулирующее действие загрязнения у *Picea abies* L., *Pinus sylvestris* L. на синтез каротиноидов и ингибирующее действие сильного загрязнения на синтез хлорофиллов. Предполагается важная роль каротиноидов в защите Хл *a* реакционных центров от фотоингибирования в условиях загрязнения.

4. В исследованиях пигментного состава нормального и хлорофиллдефектных фенотипов контрольной и мутантных линий *Festuca pratensis* Huds. в условиях высокой температуры показано увеличение содержания зеаксантина у наиболее депигментированного

фенотипа *xantha*, что может свидетельствовать о функциональной активности у него виолаксантинового цикла.

5. Показано, что под воздействием высокой температуры происходит снижение фотосинтетической активности хлорофиллдефектных фенотипов контрольной и мутантных линий *Festuca pratensis* Huds. Установлены защитные механизмы: работа пигментов виолаксантинового цикла, снижение улавливающей способности РЦ ФС II и разобщение ССК от РЦ.

6. Активность виолаксантинового цикла является не только защитным от фотоингибирования механизмом кратковременного действия у хвойных и долговременного у травянистых растений в условиях вышеперечисленных стрессов, но и частью сложной системы регуляции фотосинтеза.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Таланова Т. Ю. Состояние и ассимиляционный аппарат *Picea abies* L. как индикаторный показатель уровня загрязнения окружающей среды в условиях среднетаежной зоны // VI Мол. конф. ботаников: Тез. докл. СПб., 1997. С. 66.

2. Таланова Т. Ю. Местные хвойные растения в озеленении г. Петрозаводска // Проблемы озеленения северных городов: Тез. докл. Междунар. совещ. Петрозаводск, 1997. С. 80.

3. Talanova T. Ju. Effect of urban human activity on the activity of the photosynthetic apparatus of *Picea abies* L. // Molecular responses of plants to biotic and abiotic stresses. Proceed, of Int. Symposium. Helsinki, 1997. P. 15.

4. Марковская Е. Ф., Таланова Т. Ю. Роль пигментов в зимний период у хвойных растений // Проблемы ботаники на рубеже XX-XXI веков: Тез. докл. Н(Х) съезда Русского ботанического общества. СПб., 1998. Т. 1. С. 180.

5. Таланова Т. Ю. К методике фиксации растительного материала для экологических исследований, влияние сроков и способов хранения // Актуальные проблемы биологии и экологии: Тез. докл. 6-й Мол. науч. конф. Сыктывкар, 1999. С. 241-242.

6. Олимпиев Г. С., Лебедева О. Н., Тихов П. В., Марковская Е. Ф., Таланова Т. Ю., Стафеева Е. Б. Длительные эффекты температурозависимой депигментации растений // Биологические основы изучения, освоения и охраны животного и растительного мира, почвенного покрова восточной Фенноскандии: Тез. докл. Междунар. конф. Петрозаводск, 1999. С. 42.

7. Таланова Т. Ю., Сазонова Т. А., Ефлов В. Б. Состояние пигментного аппарата *Picea abies* L. и *Pinus silvestris* L. в условиях

промышленного загрязнения на территории Кольского полуострова // Биологические основы изучения, освоения и охраны животного и растительного мира, почвенного покрова восточной Фенноскандии: Тез. докл. Междунар. конф. Петрозаводск, 1999. С. 50-51.

8. **Таланова Т. Ю.**, Марковская Е. Ф., Олимпиенко Г. С. Особенности фотосинтетического аппарата мутантных линий *Festuca pratensis* Huds. // Физиология растений - наука III тысячелетия: Тез. докл. 4-го съезда Общества физиологов растений России, Межд. конф. Москва, 1999. Т. 1. С. 99-100.

9. **Таланова Т. Ю.**, Лайдинен Г. Ф. Физиологическая характеристика фотосинтетического аппарата *Festuca pratensis* Huds. на территории Карелии // Эколого-популяционный анализ кормовых растений естественной флоры, интродукция и использование: Материалы IX Междунар. симпозиума по новым кормовым растениям. Сыктывкар, 1999. С. 194-195.

10. Олимпиенко Г. С, Лебедева О. Н., Тихов П. В., Марковская Е. Ф., **Таланова Т. Ю.** Растительные пигменты и радиационная защита - новые подходы // Проблемы радиационной защиты: Тез. докл. конф. Москва, 1999. С. 54.

11. Сазонова Т. А., Теребова Е. Н., Галибина Н. А., **Таланова Т. Ю.**, Шредере С. М., Чиненова Л. А., Канючкова Г. К. Оценка функционального состояния *Pinus sylvestris* L. в условиях слабого загрязнения // Биоэкологические аспекты мониторинга лесных экосистем Северо-Запада России: Сб. статей. Петрозаводск, 2001. С. 157-174.

12. Марковская Е. Ф., **Таланова Т. Ю.**, Олимпиенко Г. С, Лебедева О. Н., Тихов П. В. Феномен температурозависимой хлорофиллдефектности *Festuca pratensis* Huds. // Физиология растений. 2002. Т. 49. № 2. С. 320-323.

13. Теребова Е. Н., Галибина Н. А., Сазонова Т. А., **Таланова Т. Ю.** Индивидуальная изменчивость метаболических показателей ассимиляционного аппарата сосны обыкновенной в условиях промышленного загрязнения // Лесоведение. 2003. № 1. С. 73-77.

14. **Таланова Т. Ю.**, Марковская Е. Ф. Влияние температурных и световых условий на характеристики фотосистем пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // Физиологические аспекты продуктивности растений: Материалы науч.-методич. конф. Орел, 2004. Ч. 1. С. 93-98.

15. **Таланова Т. Ю.**, Марковская Е. Ф. Физиологическая характеристика фотосинтетического аппарата температурозависимой хлорофиллдефектной *Festuca pratensis* Huds. // Физиологические аспекты продуктивности растений: Материалы науч.-методич. конф. Орел, 2004. Ч. 1. С. 98-103.

Подписано к печати 28.10.04. Формат 60x84 1/16.

Бумага офсетная. Печать офсетная.

Уч.-изд. л. 1,1. Усл. кр.-отт. 7. Тираж 100 экз. Изд. № 199.

Государственное образовательное учреждение высшего  
профессионального образования

**ПЕТРОЗАВОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

Типография Издательства Петрозаводского

государственного университета

185910, Петрозаводск, пр. Ленина, 33



**№21860**

РНБ Русский фонд

2005-4  
20669