

УДК 58.036.5 : [581.17: 582.542.1]

ХАРАКТЕР И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ИЗМЕНЕНИЙ В ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОМ АППАРАТЕ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ХОЛОДОВОГО ЗАКАЛИВАНИЯ

**А. Ф. Титов, Ю. В. Венжик, В. В. Таланова, С. А. Фролова,
А. В. Таланов, Е. А. Назаркина**

Институт биологии Карельского научного центра РАН

На проростках озимой пшеницы изучали динамику ряда показателей активности фотосинтетического аппарата (ФСА) в процессе закаливания при температуре 4 °С. Показано, что первые часы воздействия холода являются этапом своеобразной функциональной «перенастройки» растительного организма к изменившимся температурным условиям. В это время отмечено некоторое снижение активности ФСА и полное прекращение линейного роста листа, а также адаптивное увеличение нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла. Затем (1–4 сут) устойчивость клеток листьев достигает максимального уровня, скорость фотосинтеза и электронного транспорта стабилизируется, содержание хлорофилла в светособирающем комплексе (ССК) увеличивается и возобновляется рост растений. Заключительный этап адаптации (4–7 сут) характеризуется не только постоянным уровнем устойчивости, но и новой функциональной организацией ФСА, что позволяет растениям успешно переносить пониженную температуру.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., холодное закаливание, холодоустойчивость, фотосинтез, хлорофиллы, флуоресценция хлорофилла.

**A. F. Titov, Yu. V. Venzhik, V. V. Talanova, S. A. Frolova, A. V. Talanov,
E. A. Nazarkina. THE NATURE AND SEQUENCE OF CHANGES IN
THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF WINTER WHEAT PLANTS
UNDER COLD HARDENING**

The dynamics of some parameters of the photosynthetic apparatus (PSA) activity of winter wheat seedlings during hardening at a temperature of 4 °C were studied. It was shown that first hours of cooling were the phase of peculiar functional «reset» of the plant organism to the new temperature conditions. In this period, we observed some decrease in PSA activity, cessation of leaf linear growth, and an adaptive increase in non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence. Then (1–4 days), cold resistance of leaf cells attained the highest level, the rate of photosynthesis and electron transport stabilized, chlorophyll content in the light-harvesting complex (LHC) increased, and plant growth resumed. The final phase of adaptation (4–7 days) featured not only constant tolerance level, but also new functional organization of PSA which allowed the plants to successfully survive low temperature.

Key words: *Triticum aestivum* L., cold hardening, cold resistance, photosynthesis, chlorophylls, chlorophyll fluorescence.

Введение

Работами многих авторов показано, что под влиянием низких закаливающих температур в растениях происходят многочисленные структурные и функциональные изменения, среди которых важное место занимают изменения в ФСА [Мирославов, 1994; Hurry et al., 1995; Yamasaki et al., 2002; Климов, 2003; Rapacz et al., 2004; Трунова, 2007; Венжик и др., 2008]. Существенно, что некоторые из них наблюдаются уже в первые часы воздействия холода и имеют очевидное адаптивное значение. Однако в литературе очень мало сведений, касающихся последовательности возникновения этих изменений, хотя информация подобного рода весьма важна для понимания природы адаптации растений. В связи с этим нами было проведено изучение характера и последовательности изменений ряда показателей активности ФСА у проростков озимой пшеницы в процессе их низкотемпературного закаливания.

Материал и методы

Опыты проводили с проростками озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, выращенными в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе Кнопа в камере искусственного климата при температуре воздуха 22 °С, его относительной влажности 60–70 %, освещенности 10 клк, фотопериоде 14 ч. Затем недельные проростки в течение 7 сут подвергали действию температуры 4 °С, сохраняя неизменными прочие условия. Растения контрольного варианта оставались при 22 °С. Все измерения проводились на первом листе.

Холодоустойчивость проростков оценивали по температуре (LT_{50}), вызывающей гибель 50 % палисадных клеток паренхимы листовых высечек после их 5-минутного промораживания в микрохолодильнике ТЖР-02/-20 (Интерм, Россия) [Балагурова и др., 1982]. Жизнеспособность клеток определяли с помощью светового микроскопа Микмед-2 (ЛОМО, Россия).

Площадь листовой пластинки определяли по В. В. Аникиеву и Ф. Ф. Кутузову [1961]. Интенсивность CO_2 -газообмена листьев проростков анализировали с помощью портативной фотосинтетической системы НСМ-1000 (Walz, Германия). При этом условия внутри листовой камеры для исследования были такими же, как в камере выращивания. Интенсивность нетто-фотосинтеза рассчитывали по известным формулам [Caemmerer, Farquhar, 1981]. Измерение флуоресценции хлорофилла прово-

дили с помощью флуориметра MINI-PAM (Walz, Германия). Листья предварительно адаптировали к темноте в течение 15 мин. Основные параметры флуоресценции хлорофилла *a* (относительная скорость электронного транспорта ETR , коэффициент нефотохимического тушения флуоресценции qN и максимальная эффективность фотосистемы II F_v/F_m) рассчитывали согласно работе [Maxwell, Johnson, 2000]. Содержание хлорофиллов определяли с помощью спектрофотометра СФ-2000 (Спектр, Россия) в спиртовой вытяжке [Гавриленко, Жигалова, 2003]. Расчет доли хлорофиллов в светособирающем комплексе (ССК) от их суммы производили с учетом того, что весь хлорофилл *b* находится в ССК, а отношение хлорофиллов a/b в ССК равно 1,2 [Lichtenthaler, 1987].

Повторность при оценке холодоустойчивости и показателей работы ФСА в пределах одного варианта – 3–6-кратная, а при анализе роста листа – 30–60-кратная. Каждый опыт повторяли не менее 2 раз. В статье обсуждаются величины, достоверные при $P \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что под влиянием температуры 4 °С наряду с ростом устойчивости клеток листа пшеницы происходит целый комплекс изменений в работе ФСА (табл.). В частности, повышение устойчивости, наблюдаемое уже в первые часы воздействия холода, сопровождалось увеличением коэффициента нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла. Его рост связан с рассеиванием избыточной энергии света в виде теплового излучения [Demmig-Adams, Adams, 2006], что часто отмечается у растений в условиях действия низкой температуры [Yamasaki et al., 2002; Hendrickson et al., 2004] и является своеобразным механизмом защиты фотосистемы II, наиболее чувствительной к повреждениям [Мокроносков и др., 2006]. Одновременно с этим наблюдали полное торможение роста листьев, а также снижение интенсивности фотосинтеза, скорости электронного транспорта и содержания хлорофиллов. Изменения в содержании хлорофиллов в первые часы закаливания, скорее всего, связаны с перестройкой мембранного аппарата хлоропластов, которые, как показано ранее, очень быстро реагируют на снижение температуры [Венжик и др., 2008]. При этом прекращение роста листа и снижение показателей функциональной активности ФСА, вероятно, вызваны прямым ингибирующим действием холода на эти процессы. Таким образом, уже в первые часы закаливания проис-

Характер и относительная величина изменений устойчивости и показателей активности ФСА в зависимости от продолжительности экспозиции проростков озимой пшеницы с. Московская 39 в условиях температуры 4 °С*

Показатель	Значение показателя по отношению к исходному** уровню, %							
	продолжительность экспозиции при 4 °С, ч							
	0	1	5	24	48	72	96	168
Холодоустойчивость	100	109*	125*	141*	152*	150*	161*	155*
Площадь листа	100	100	100	100	108*	114*	111*	134*
Интенсивность фотосинтеза	100	100	83*	82*	81*	80*	80*	83*
Скорость электронного транспорта, <i>ETR</i>	100	101	93*	96	85*	84*	83*	83*
Максимальная эффективность фотосистемы II, F_v/F_m	100	100	100	92*	93*	84*	83*	87*
Коэффициент нефотохимического тушения, <i>qN</i>	100	105	112*	111*	118*	125*	125*	134*
Содержание хлорофиллов <i>a + b</i>	100	89*	91*	98	103	106*	114*	112*
Содержание хлорофилла в ССК	100	85*	78*	90*	93*	101	117*	116*

Примечание. * Отличия от исходного уровня (22 °С) достоверны при $P \leq 0,05$. ** Исходный уровень холодоустойчивости – $-5,6 \pm 0,1$ °С, площади листа – 220 ± 3 мм², интенсивности фотосинтеза – $10,7 \pm 0,2$ мкмоль м⁻² с⁻¹, скорости электронного транспорта – $103,8 \pm 2,0$, максимальной эффективности фотосистемы II – $0,75 \pm 0,01$, коэффициента нефотохимического тушения – $0,56 \pm 0,01$, содержания хлорофиллов *a + b* – $1,22 \pm 0,02$ мг/г сырой массы, содержание хлорофилла в ССК – $0,69 \pm 0,05$ мг/г сырой массы.

ходит своеобразная «перенастройка» работы ФСА растений к изменившимся температурным условиям.

Через 24 ч закаливания на фоне дальнейшего возрастания устойчивости и нефотохимического тушения флуоресценции, при полном прекращении роста листа начинается стабилизация скорости фотосинтеза. Эти данные подтверждают точку зрения, согласно которой поддержание работы ФСА у озимых злаков осуществляется на фоне торможения ростовых процессов [Климов и др., 1992; Hurry et al., 1995]. Отдельно следует отметить, что с этого момента начинается восстановление содержания хлорофиллов за счет увеличения доли хлорофилла в ССК, что считается адаптивным механизмом компенсации снижения общего количества зеленых пигментов [Maslova, Popova, 1993; Шерстнева и др., 2007]. Возможно также, что на этом этапе происходит стабилизация пигмент-белковых комплексов, и с этим связано восстановление содержания пигментов. Стабилизация пигментных комплексов и увеличение содержания хлорофиллов, в свою очередь, поддерживают работу фотосистемы II в условиях низкой температуры [Oliveria et al., 2002]. Когда холодоустойчивость клеток листа достигает максимума (на 3–4 сут), возобновляется линейный рост листа (табл.). Очевидно, изменения в энергетическом обмене, произошедшие в растительных клетках под влиянием низкой температуры, весьма значительны и способствуют возобновлению на данном этапе роста. В целом этот этап (1–4 сут закаливания), видимо, следует рассматривать как период стабилизации работы ФСА в условиях низкой закаливающей температуры.

На заключительном этапе холодовой адаптации (4–7 сут) отмечен существенный прирост площади листовой пластинки (более чем

на 30 %) и коэффициента нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла, тогда как остальные показатели значительных изменений уже не претерпевали. Вероятно, в этот период ФСА функционирует в новом стабильном режиме, необходимом для выживания растений в изменившихся температурных условиях.

Отдельно подчеркнем, что наблюдаемое в процессе закаливания снижение основных показателей работы ФСА (скорость фотосинтеза, электронного транспорта и максимальная эффективность фотосистемы II) было не столь значительным (13–17 %), и все они на 7-е сут закаливания оставались на уровне, превышающем 80 % от исходных значений (табл.). Подобного рода факты приводятся и другими авторами, работавшими с ячменем [Krol et al., 1999] и озимой пшеницей [Gray et al., 1996]. Эти данные подтверждают, что для растений, выращиваемых в условиях пониженных температур, способность сохранять относительно высокую интенсивность фотосинтеза является очень важной [Hurry et al., 1995], поскольку позволяет накапливать резервные пластические вещества, необходимые для холодовой адаптации [Климов, 2003; Трунова, 2007].

Следует еще раз отметить, что полное прекращение роста листа наблюдалось у проростков пшеницы только в течение первых 24 ч закаливания. В дальнейшем зафиксирован медленный рост листа, и в результате к концу опыта (через 7 сут охлаждения) площадь листа закаленных проростков превосходила исходные значения примерно на треть (табл.). Подобное торможение роста является приспособительной реакцией, поскольку способствует преобладанию донорной функции (фотосинтез) над акцепторной (рост) [Климов и др., 1997]. Это, в свою очередь, приводит к сдвигу метаболизма в сторону усиления синтеза высококомо-

лекулярных соединений (углеводов, липидов) и благоприятствует дальнейшей адаптации к низкой температуре [Климов, 2003; Трунова, 2007]. Добавим, что пониженные температуры, ингибируя деление клеток, мало влияют на их рост растяжением [Родченко и др., 1988]. Вследствие этого формируются характерные для северных растений крупные клетки мезофилла, богатые хлоропластами, пролиферация которых усиливается, обуславливая дополнительную возможность поддержания достаточно высокой интенсивности фотосинтеза [Мирославов, 1994].

Резюмируя все изложенное, можно заключить, что под влиянием низкотемпературного закаливания происходит не только увеличение устойчивости проростков озимой пшеницы, но и целый комплекс адаптивных изменений в ФСА. Важно, что эти изменения возникают в определенной последовательности. В частности, в первые часы закаливания проростки реагируют на холод некоторым снижением активности ФСА и прекращением линейного роста листа. В это же время наблюдается адаптивное увеличение нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла. В целом первые часы закаливания можно рассматривать как период своеобразной функциональной «перенастройки» растительного организма к изменившимся условиям среды. Последующий этап закаливания (1–4 сут) характеризуется стабилизацией фотосинтеза и скорости электронного транспорта, увеличением содержания хлорофилла в ССК и возобновлением роста листа. В этот же период устойчивость клеток листьев достигает максимального уровня. Заключительный этап холодовой адаптации (4–7 сут) характеризуется не только постоянным уровнем холодоустойчивости, но и новой функциональной организацией ФСА растений, что позволяет им успешно переносить неблагоприятные условия внешней среды.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 06-04-49107а).

Литература

Аникиев В. В., Кутузов Ф. Ф. Новый способ определения площади листовой пластинки у злаков // Физиология растений. 1961. Т. 44, вып. 8. С. 375–377.

Балагурова Н. И., Дроздов С. Н., Хилков Н. И. Метод определения устойчивости растительных тканей к промораживанию. Петрозаводск: КФАН СССР, 1982. 6 с.

Венжик Ю. В., Фролова С. А., Котеева Н. К. и др. Структурно-функциональные особенности растений *Triticum aestivum* L. (*Poaceae*) на начальном этапе холодовой адаптации // Ботан. журн. 2008. Т. 93, № 9. С. 39–49.

Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. Большой практикум по фотосинтезу. М.: Академия, 2003. 241 с.

Климов С. В. Холодовое закаливание растений – результат поддержания повышенного отношения фотосинтез/дыхание при низких температурах // Известия РАН, сер. биол. 2003. № 1. С. 57–62.

Климов С. В., Астахова В. Н., Давыденко С. В., Трунова Т. И. Влияние холода на функцию и структуру фотосинтетического аппарата озимой пшеницы и ржи // Физиология растений. 1992. Т. 324, № 6. С. 1339–1344.

Климов С. В., Астахова В. Н., Трунова Т. И. Связь холодоустойчивости растений с фотосинтезом // Физиология растений. 1997. Т. 44, № 6. С. 879–886.

Мирославов Е. А. Структурная адаптация растений к холодному климату // Ботан. журн. 1994. Т. 79, № 2. С. 20–26.

Мокроносков А. Т., Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты. М.: Академия, 2006. 446 с.

Родченко О. П., Маричева Э. А., Акимова Г. П. Адаптация растущих клеток корня к пониженным температурам. Новосибирск, 1988. 147 с.

Титов А. Ф., Акимова Т. В., Таланова В. В., Толчичева Л. В. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. М.: Наука, 2006. 143 с.

Трунова Т. И. Растение и низкотемпературный стресс. 64-е Тимирязевское чтение. М.: Наука, 2007. 54 с.

Шерстнева О. А., Маслова Т. Г., Мамушина Н. С. и др. Фотосинтетический аппарат и светозависимые поглощения ксантофиллов в листьях эфемероидов на разных этапах онтогенеза растений // Ботан. журн. 2007. Т. 92, № 1. С. 72–80.

Caemmerer S., Farquhar G. D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves // Planta. 1981. Vol. 153. P. 376–381.

Demmig-Adams B., Adams W. W. Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation // New Phytol. 2006. Vol. 172. P. 11–21.

Gray G. R., Savitch L. V., Ivanov A. G., Huner N. R. Photosystem II excitation pressure and development of resistance to photoinhibition // Plant Physiol. 1996. Vol. 110. P. 61–71.

Hendrickson L., Förffter B., Furbank R. T., Chow W. C. Processes contributing to photoprotection of grapevine leaves illuminated at low temperature // Physiol. Plant. 2004. Vol. 121. P. 272–281.

Hurry V. M., Strand A., Tobiasson M. et al. Cold hardening of spring and winter wheat and rape results in differential effects on growth, carbon metabolism and carbohydrate content // Plant Physiol. 1995. Vol. 109. P. 697–706.

Krol M., Ivanov A. G., Jansson S. et al. Greening under high light or cold temperature affects the level of xanthophyll-cycle pigments, early light-inducible proteins, and light-harvesting polypeptides in wild-type barley and the chlorina F2 mutant // Plant Physiol. 1999. Vol. 120. P. 193–203.

Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids – pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in enzymology. 1987. Vol. 148. P. 350–382.

Maslova T. G., Popova I. A. Adaptive properties of plant pigment systems // *Photosynthetica*. 1993. Vol. 29. P. 195–203.

Maxwell K., Johnson G. N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide // *J. Exp. Bot.* 2000. Vol. 51. P. 659–668.

Oliveria J. G., Alves P. L., Magalhães A. C. The effect of chilling on the photosynthetic activity in coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings. The protective action of chloroplastid pigments // *Brazil. J. Plant Physiol.* 2002. Vol. 14. P. 95–104.

Rapacz M., Gasior D., Zweirzykowski Z. et al. Changes in cold tolerance and the mechanisms of acclimation of photosystem II to cold hardening generated by anther culture of *Festuca pratensis* x *Lolium multifolium* cultivars // *New Phytol.* 2004. Vol. 162. P. 105–114.

Yamasaki T., Yamakawa T., Yamane Yo. et al. Temperature acclimation of photosynthesis and related changes in photosystem II electron transport in winter wheat // *Plant Physiol.* 2002. Vol. 128. P. 1087–1097.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Титов Александр Федорович

председатель КарНЦ РАН, чл.-корр. РАН, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: krcras@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 769710

Венжик Юлия Валерьевна

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: venzhik@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762712

Таланова Вера Викторовна

ведущий научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: talanova@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762712

Фролова Светлана Анатольевна

младший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: frolova@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762712

Назаркина Елена Александровна

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: meshkova@krc.karelia.ru
тел. (8142) 762712

Titov, Alexandr

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: krcras@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 769710

Venzhik, Yulia

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: venzhik@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762712

Talanova, Vera

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: talanova@krc.karelia.ru
Tel. (8142) 762712

Frolova, Svetlana

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: frolova@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762712

Nazarkina, Elena

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian
Academy of Science
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: meshkova@krc.karelia.ru
tel. (8142) 762712