

О. А. КОВАЛЕВА¹, Т. Г. ЯНЧЕВСКАЯ²

ВЛИЯНИЕ УФР НА ФОТОДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕРЕМЕННОЙ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА МЕРИСТЕМНЫХ РЕГЕНЕРАНТОВ КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSUM* L.)

¹Белорусский государственный педагогический университет им. М. Танка,²Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск

Введение. Многочисленные исследования за последние десятилетия переменной флуоресценции хлорофилла (ПФХ) свидетельствуют, что этот метод является весьма информативным для физиологии растений. Индукционные кривые ПФХ содержат в себе информацию о редокс-состояниях акцепторов фотосистемы II (ФС II), а также об уровне энергизации тилакоидных мембран (генерации протонного градиента ΔpH) хлоропластов [8, 15, 16]. В нативных листьях высших растений источником ПФХ является ФС II. В настоящее время достаточно подробно изучены несколько основных механизмов тушения ПФХ. Главные механизмы из них – фотохимическое тушение, связанное с конкурирующими фотохимическими реакциями в ФС II, а также нефотохимическое тушение, которое в основном вызывается усилением безызлучательной диссипации энергии возбуждения ФС II за счет процесса энергизации тилакоидных мембран хлоропластов [6, 8].

Кинетические кривые ПФХ нативных листьев растений обычно разделены на несколько временных зон, амплитуда каждой из которых зависит от интенсивности актиничного света и частоты его модуляции, а также более или менее от времени темновой инкубации целых растений, отдельных листьев или изолированных хлоропластов [12, 28]. Результирующая индукционная кривая ПФХ в листьях сельскохозяйственных растений очень часто отражает сложную кинетику с частично уменьшенной амплитудой колебаний, обусловленной только частичной регуляцией уровней АТФ и НАДФН в строме хлоропластов в начале процесса фиксации CO_2 [23, 28].

Исследование влияния ультрафиолетовой радиации (УФР) на ПФХ интактных листьев сельскохозяйственных растений представляет особый интерес в связи с тем, что большинство сельскохозяйственных растений существенно отличаются друг от друга по устойчивости к действию различных доз и спектрального состава УФР [20, 18, 24, 3]. Это свойство может изменяться в зависимости от условий выращивания сельскохозяйственных растений в защищенном грунте [4, 25]. Поэтому нам представляется важным выяснить, вызваны ли эти различия приспособлениями на организменном уровне, уменьшающими положенную дозу УФР, или же специфическими структурно-функциональными особенностями клеток того или иного вида сельскохозяйственных растений. Изучение влияния УФР на изменения в основных параметрах ПФХ интактных листьев позволяет, по-видимому, получить ответ на этот вопрос.

Объекты и методы исследования. Исследования выполнены на меристемных регенерантах картофеля сортов Скарб, Явар и Одиссей белорусской селекции, которые выращивали в течение 30 сут под натриевыми лампами ДНАЗ-400 (фотопериод – 16 ч) на искусственных ионообменных субстратах при комнатной температуре. Источником УФР служила ртутная лампа ДРТ-1000 ($\lambda = 240\text{--}320$ нм). Для контроля величины дозы облучения растений использовали УФР-дозиметр ДАУ-81. Однократная доза (E_1) УФР-облучения растений картофеля – 120 Дж/м². Все варианты экспериментов выполняли в 3–5-кратной повторности.

Облучение УФ проводили по следующей схеме:

Схема эксперимента

Сутки	Варианты опыта, доза облучения УФР, Дж/м ²				
	I	II	III	IV	V
1-е	–	120	120	120	120
2-е	–	–	120	120	120
3-е	–	–	–	120	120
4-е	–	–	–	–	120
Сум. УФР	–	120	240	360	480

Измерение ПФХ отдельных листьев меристемных регенерантов картофеля осуществляли на двулучевом флуориметре переменного тока с цилиндрическим фосфороскопом, аналогичном по своим конструктивным особенностям флуориметру, описанному в работе [28]. Основными параметрами ПФХ, используе-

мые нами для характеристики ее фотодинамических изменений в вариантах до и после облучения растений картофеля УФР, являются: F_0 – базовая (фоновая) интенсивность (отн. ед.) ПФХ; F_m – максимальный уровень интенсивности (отн. ед.) ПФХ, полученный после применения вспышки актиничного света высокой интенсивности на фоне действия модулированного измерительного света относительно низкой интенсивности; $F_v = F_m - F_0$ – переменная компонента интенсивности (отн. ед.) ПФХ под влиянием непрерывного актиничного света в течение определенного промежутка времени сканирования образца (листа); $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ – квантовый выход фотохимических реакций ФС II; $qP = (F_m - F_t)/(F_m - F_0)$ – коэффициент фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла a , где F_t – величина переменной флуоресценции в момент времени t после максимального уровня F_m ; $qN = (F_m - F_0)/F_{m1}$ – коэффициент нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла a , где F_{m1} – максимальный уровень флуоресценции, полученный после применения вспышки актиничного света высокой интенсивности на фоне действия модулированного актиничного света относительно низкой интенсивности. Результирующая индукционная кривая переменной флуоресценции листьев отражает сложную кинетику с частично уменьшенной амплитудой колебаний, обусловленной только частичной регуляцией уровнем АТФ и НАДФН⁺ в строме хлоропластов в начале процесса фиксации CO₂ [15, 8, 16, 6, 28].

Результаты и их обсуждение. Исследования показали, что при многократном облучении (согласно схеме эксперимента) меристемных регенерантов картофеля сорта Скарб полным УФР-спектром излучения от лампы ДРТ-1000 наблюдается (табл. 1) постепенное колебательное увеличение интенсивности ПФХ (F_t/F_m) с каждой очередной дозой поглощенных листьями квантов УФР. Известно [28], что при благоприятных для фотосинтеза условиях интенсивность ПФХ достаточно мала, но резко увеличивается в условиях блокирования ЭТЦ рядом химических агентов (например, диуроном). Это указывает на то, что в нашем случае ФС II и вся цепь переноса электронов функционировали с большим напряжением. Если же блокирование ЭТЦ не приводит к возрастанию интенсивности ПФХ [28], это означает, что цепь функционировала неэффективно. По-видимому, полученные нами данные отражают некоторое замедление первичных фотосинтетических процессов в хлоропластах картофеля сорта Скарб вследствие уменьшения скорости переноса электронов по электрон-транспортной цепи при облучении растений УФР.

Т а б л и ц а 1. Изменение интенсивности ПФХ листьев меристемных растений картофеля сорта Скарб в зависимости от дозы УФР-облучения

Однократная доза облучения	Кратность облучения УФР	Интенсивность ПФХ, отн. ед.					
		Контроль			Опыт (+УФР)		
		F_m	F_t	F_t/F_m	F_m	F_t	F_t/F_m
E_1	1	13.4±0.2	5.4±0.6	0.403	15.3±0.4	6.3±0.4	0.412
E_1	2	8.03±0.3	3.8±0.4	0.473	10.9±0.3	5.1±0.5	0.468
E_1	3	11.3±0.5	3.4±0.3	0.301	11.2±0.6	6.0±0.3	0.535
E_1	4	2.7±0.2	0.95±0.3	0.351	2.13±0.2	1.2±0.1	0.547

П р и м е ч а н и е. F_m – максимальная амплитуда фотоиндуцированных изменений интенсивности ПФХ под действием актиничного света; F_t – амплитуда изменений ПФХ через 3 мин после момента включения актиничного света.

Как видно из представленных ниже рис. 1 и 2, для обоих сортов Явар и Одиссей меристемных регенерантов картофеля в результате многократного предварительного облучения растений УФР суммарными дозами 120–480 Дж/м² с темновыми интервалами в 24 и 48 ч между экспозициями наблюдается колебательный характер фотоиндуцированных изменений интенсивности ПФХ (F_t/F_m). Было также обнаружено, что в процессе УФР-облучения растений уровень F_0 практически не изменялся во всех вариантах опыта, а только наблюдалось влияние УФР на характер снижения величины F_m и F_t . Это обусловлено, по-видимому, тем, что мы регистрируем только фотохимическое тушение ПФХ, а нефотохимическую компоненту практически исключаем, как это возможно в случае применения в исследованиях техники РАМ-флуориметрии [16].

На основании полученных нами экспериментальных данных мы пока не можем однозначно ответить, вызваны ли эти различия на уровне УФР-индукции изменений морфоструктуры и вторичного метаболизма эпителиальных клеток целых листьев картофеля, или же они обусловлены специфической генно-молекулярной УФР-модуляцией регуляции фотосинтетической активности хлоропластов. Поскольку мы постоянно использовали при облучении регенерантов картофеля однократные дозы УФР достаточно низкой

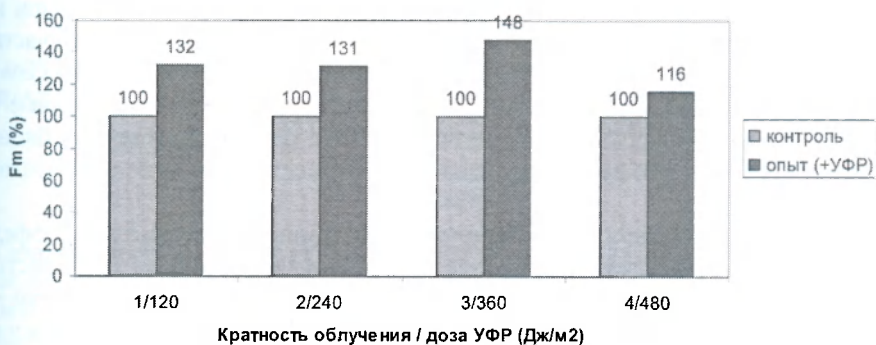


Рис. 1. Изменение интенсивности (F_m) ПФХ меристемных растений картофеля сорта Явар при их многократном облучении УФР

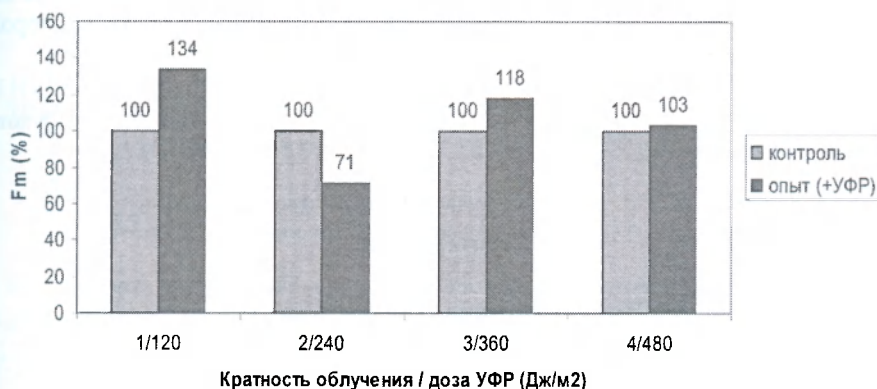


Рис. 2. Изменение интенсивности (F_m) ПФХ меристемных растений картофеля сорта Одиссей при их многократном облучении УФР

интенсивности, это дает нам определенное право полагать, что, по-видимому, в системе отсутствует существенное нарушение физиологической активности донорной части ФС II (контроль осуществлялся по скорости реакции Хилла и фотоиндуцированным изменениям величины ΔpH). Поэтому можно предположить, что снижение амплитуды $F_v = F_m - F_o$ (параметр переменной компоненты интенсивности ПФХ) при облучении УФР листьев может быть вызвано либо возрастанием безызлучательных потерь в самих реакционных центрах (РЦ) ФС II, либо уменьшением поступления энергии возбуждения из светособирающего комплекса (ССК) в РЦ ФС II за счет активации работы механизма фосфорилирования ССК ФС II и перераспределения энергии возбуждения в ФС I, а также активацией обратного (циклического) транспорта электронов от первичного акцептора Q_a в РЦ ФС II [28, 5, 26]. При этом возрастание обратного транспорта электронов может быть также обусловлено частичным торможением темновых стадий процесса фотосинтеза УФР [13, 2] и в первую очередь активности функционирования РБФК [9].

Помимо указанных выше механизмов влияния УФР на регуляцию активности фотосистем хлоропластов, возможна также индукция с помощью квантов УФР (особенно при многократном облучении) ускорения оттока электронов от комплекса (D_2/D_1) апопротеинов первичных акцепторов (Q_a/Q_b) ФС II [26] посредством специфических эндогенных кофакторов внутри ЭТЦ хлоропластов картофеля. При этом характерной особенностью действия УФР в данном механизме может являться определенная генно-молекулярная активация УФР биосинтеза особых клеточных пигментов-антоцианов. Известно [11], что биосинтез антоцианов контролируется через прямую и опосредованную работу специфических рецепторов квантов УФР [7] (криптохрома, UVB-хрома) в процессе регуляции генной экспрессии [21, 14] малыми дозами УФР.

Указанные выше кофакторы наряду с каротиноидами, флавоноидами, фолатами и рядом других биогенных соединений (БОС) могут выполнять в растениях картофеля не только функцию биологических фильтров потоков УФР, поглощаемых тканями листьев [1], но также являться эффективными стимуляторами электронного транспорта в хлоропластах [17, 30, 31]. При избыточном УФР-облучении они могут также осуществлять защиту биомембран растительных клеток от окислительной их деструкции активными формами кислорода (синглетный) [26, 19] и оказывать эффективное тормозящее влияние на свободнорадикальное перекисное окисление липидов [28, 22]. Помимо этого, данные БОС способны частично выполнять

усилительную функцию работы системы темновой репарации нуклеиновых кислот при их повреждении коротковолновыми квантами УФР и другими физико-химическими агентами, а также участвовать в процессе регуляции работы фотореактивирующих ферментов (фотолиаз) [18, 10, 32]. При селективном индукционно-модулирующем влиянии искусственной УФР на растения картофеля указанные выше БОС, по-видимому, могут активно синтезироваться и влиять тем самым на внутриклеточный биосинтез и метаболизм ряда свободных аминокислот, витаминов, ключевых ферментов (глутатионпероксидазы, хальконсинтазы и др.) [27] и многое другое.

Таким образом, при многократном УФР-облучении меристемных регенерантов картофеля сортов Скарб, Явар и Одиссей колебательный характер фотоиндуцированных изменений интенсивности ПФХ отдельных листьев определяется сложными многоступенчатыми эффектами действия дискретно-модулированной УФР-индукции на фотосинтетическую функцию хлоропластов, а также на регуляцию биосинтеза ряда внутриклеточных метаболитов. Конечное физиологическое действие последних, по-видимому, опосредовано всецело через особые молекулы-сенситизаторы и генно-молекулярный механизм толерантности растений к УФР. Это свидетельствует о том, что устойчивость и адаптация растений к любым действиям на них УФР связана, в первую очередь, не со специфической морфологией и анатомией листа, но именно с особенностями структурно-функциональной организации фотосинтетического аппарата, в которой ключевую активизирующую и регулирующую роль играет УФР.

Работа выполнена при финансовой поддержке аспирантского гранта Президиума НАН Беларуси. Авторы глубоко признательны С. П. Избавителю, Н. А. Копыловой, Ж. Э. Мазец, Л. В. Обуховской, С. В. Мурашко за оказанную поддержку и помощь.

Литература

1. Adamse P., Britz S. J. // *J. Plant Physiol.* 1996. Vol. 148. P. 57–62.
2. Allen D. J., McKee I. F., Farage P. K., Baker N. R. // *Plant Cell Environ.* 1997. Vol. 20. P. 633–640.
3. Calduell M. M., Flint S. D., Searles P. S. // *Plant Cell Physiol.* 1994. Vol. 17. P. 267–276.
4. Fiscus E. L., Booker F. L. // *Photosynth. Res.* 1995. Vol. 43. P. 81–92.
5. Hartel H., Lokstein H. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1995. Vol. 1228. P. 91–94.
6. Hodges M., Cornic G., Briantais J.-M. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1989. Vol. 974. P. 289–293.
7. Jenkins G. I., Christie J. M., Fuglevand G., Long J. C., Jackson J. A. // *Plant Science.* 1995. Vol. 112. P. 117–138.
8. Krause G., Weis E. // *Photosynth. Res.* 1984. Vol. 5. P. 139–157.
9. Kulandaivelu G., Neduechezian N. // *Photosynthetica.* 1993. Vol. 29. P. 377–383.
10. Lois R., Buchanan B. B. // *Planta.* 1994. Vol. 194. P. 504–509.
11. Mol J., Jenkins G. I., Schafer E., Weiss D. // *Critical Reviews in Plant Science.* 1996. Vol. 15. P. 525–557.
12. Moll B. A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1987. Vol. 890. P. 205–214.
13. Nogue S., Baker N. R. // *Plant Cell Environ.* 1995. Vol. 18. P. 781–787.
14. Savenstrand H., Broshé M., Strid A. // *Plant and Cell Physiol.* 2002. Vol. 43, N 4. P. 402–410.
15. Schreiber U. // *Photosynth. Res.* 1983. Vol. 4. P. 361–373.
16. Schreiber U., Nenbaner C. // *Photosynth. Res.* 1993. Vol. 36. P. 65–72.
17. Sharma V., Banerji D. // *Photosynthetica.* 1981. Vol. 15, N 4. P. 540–542.
18. Stapleton A. E. // *Plant Cell.* 1992. Vol. 4. P. 1353–1358.
19. Takahama U. // *Plant Physiol.* 1984. Vol. 74. P. 852–855.
20. Teramura A. H., Sullivan J. H. // *Photosynth. Res.* 1994. Vol. 39. P. 463–473.
21. Tobin E. M., Silverthorne J. // *Ann. Rev. Plant Physiol.* 1985. Vol. 36. P. 569–593.
22. Torel J., Cillard J., Cillard P. // *Photochemistry.* 1986. Vol. 25. P. 383–385.
23. Walker D. A. // *Applications of Chlorophyll Fluorescence.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1988. P. 13–20.
24. Ziska L. H., Teramura A. H., Sullivan J. H. // *Amer. J. Bot.* 1992. Vol. 79. P. 863–871.
25. Ziska L. H. // *J. Plant Physiol.* 1996. Vol. 148. P. 35–41.
26. Бухов Н. Г. // *Физиол. растен.* 2004. Т. 51, № 6. С. 825–837.
27. Данильченко О. А., Гродзинский Д. М., Власов В. Н. // *Физиол. и биохим. культур. растен.* 2002. Т. 34, № 3. С. 187–198.
28. Карапетян Н. В., Бухов Н. Г. // *Физиол. растен.* 1986. Т. 33, № 5. С. 1013–1026.
29. Мерзляк М. И., Погосян С. И. // *Биол. науки.* 1986. № 3. С. 8–20.
30. Музафаров Е. Н., Назарова Г. Н., Любимов В. Ю. // *Докл. РАН.* 1993. Т. 330, № 5. С. 664–666.
31. Севдимашев Р. М. и др. // *Физиол. растен.* 1990. Т. 37, № 2. С. 233–240.
32. Стахов Л. Ф., Ладыгин В. Г., Стахова Л. Н. // *Биофизика.* 2002. Т. 47, № 5. С. 878–885.

INFLUENCE OF UV-IRRADIATING ON PHOTODYNAMIC CHARACTERISTICS
OF VARIABLE FLUORESCENCE OF A CHLOROPHYLL THE MERISTEMIC PLANTS SHEETS
OF POTATOES (SOLANUM TUBEROSUM L.)

Summary

The effect of artificial ultraviolet radiation (UVR) on the complete chlorophyll-a fluorescence oscillation transients of the potatoes leaves was monitored using the basic parameters of the fluorescence induction curve. Some spring questions of the role UVR in the structural and functional regulation of plant cells metabolism are considered and analysis is made of possible mechanisms of transformations of the low UV-radiation levels in them. The results of this study indicate that the different physiological and biochemical factors contribute toward potatoes plants sensitivity to UV-radiation.

УДК 504.064.36:574

А. П. КОЛБАС¹, Ю. Г. МИСЮТА²

ДРЕВЕСНЫЕ РАСТЕНИЯ – БИОИНДИКАТОРЫ ЗАГРЯЗНЕНИЯ
ГОРОДСКИХ ЭКОСИСТЕМ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

¹Брестский государственный университет им. А. С. Пушкина,

²Полесский аграрно-экологический институт НАН Беларуси, Брест

Введение. В последнее время происходит существенное повышение уровня содержания техногенных поллютантов в различных компонентах как лесных [1], так и городских [2] экосистем Республики Беларусь. Высокие концентрации многих химических элементов и соединений, обусловленные техногенными процессами, обнаружены в настоящее время во всех природных составляющих урбоэкосистем: атмосфере, водах, почвах, растениях, животных. К числу опасных загрязнителей относятся тяжелые металлы (ТМ), которые вызывают различные заболевания людей, животных и растений и почти не подвержены процессам разрушения в природных условиях. Особенно опасны они для детей. Существенное повышение уровня их содержания в различных компонентах городских экосистем связано с увеличением количества автомобильного транспорта, промышленных и котельных предприятий, а также с ростом объемов сточных вод и различных компостов из бытового мусора.

Не составляет исключения в этом отношении и город Брест. По накоплению в почвах некоторых опасных ТМ (Cd, Pb, Ni) территория города занимает одно из первых мест в республике [3]. В связи с этим в последнее время остро стоит проблема мониторинга состояния экосистем города с учетом принципа экологического районирования его территории.

Начальный этап экологической диагностики – выявление наиболее информативных индикационных показателей. В наземных экосистемах наиболее высокочувствительными к химическим загрязнениям биообъектами являются растения, существенное преимущество которых – легкодоступность для наблюдений. Большинство растений переносит высокие концентрации токсических веществ в почве, атмосфере и активно накапливает их в своих тканях без видимого ущерба для жизнедеятельности. Все это позволяет рассматривать их также в качестве перспективных фиторемедиантов.

Фотосинтетический аппарат растений, имеющий большую поверхность контакта со средой, в наибольшей степени подвергается неблагоприятным воздействиям загрязнителей. Поэтому содержание ТМ в листьях растений является одним из довольно информативных показателей. Он позволяет судить как о динамике поступления вредных веществ, так и о накоплении их за весь вегетационный период.

Цель данного исследования – выявить тест-объекты для аккумулятивной биоиндикации содержания ТМ в урбоэкосистемах на примере г. Бреста. Для ее достижения необходимо: определить видовую специфику растений в накоплении ТМ в условиях полиметаллического загрязнения городских экосистем; сравнить их с растениями, произрастающими на условно чистых территориях, выявить зависимость аккумулятивной способности листьев от содержания в них воды, а также предложить сферы применения полученных результатов.

Объекты и методы исследования. Географическое положение Бреста (западная часть Южного интродукционного района РБ) позволяет значительно расширить ассортимент исследуемых растений за счет теплолюбивых видов. Важнейшие критерии при выборе объектов – декоративность и газоустойчивость. Всего был исследован 21 вид как местных, так и интродуцированных растений (табл. 1).