УДК 574.24:577.345

## ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ПАРАМЕТРЫ CERASUS VULGARIS MILL. РАЗНЫХ СОРТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕРТИКАЛЬНОЙ ЗОНАЛЬНОСТИ

А. Т. Маммаев<sup>1</sup>, Е. В. Пиняскина<sup>1,2</sup>, А. В. Пиняскина<sup>1</sup>, М. Х.-М. Магомедова

<sup>1</sup>Прикаспийский институт биологических ресурсов ДНЦ РАН <sup>2</sup>Дагестанский государственный университет

Приведены исследования флуоресцентных параметров листьев вишни сортов Облачинская, Шубинка и Склянка розовая, произрастающих на высоте 1100 м (Цудахар) и 100 м над уровнем моря (Ленинкент). У «горных» образцов (1100 м) вишневых деревьев отмечено увеличение квантовых выходов фоновой ( $F_0$ ), максимальной флуоресценций ( $F_m$ ) и увеличение эффективности использования световой энергии ( $F_0$ ); повышение общего содержания пигментов (хлорофиллов  $F_0$ ) и каротиноидов), увеличение содержания хлорофилла  $F_0$ 0 относительно ленинкентских образцов; пониженное соотношение ( $F_0$ 1) и каротиноидов), увеличение содержания хлорофилла  $F_0$ 1 относительно ленинкентских образцов; пониженное соотношение ( $F_0$ 1) и вределах 3,6 (у ленинкентских деревьев  $F_0$ 1. Отмечено высокое содержание хлорофилла  $F_0$ 1 у всех опытных образцов независимо от места произрастания. Четкой зависимости по накоплению малонового диальдегида (продукта перекисного окисления липидов) по высотному градиенту не зафиксировано, отмечено изменение содержания МДА по сортовым особенностям.

The study considers the fluorescent parameters of cherry leaves of such sorts as *Oblachinskaya*, *Shubinka* and *Sklyanka Rozovaya*, growing at the altitude of 1100 m above sea level (Tsudakhar vill.) and 100 m over sea level (Leninkent vill.). Reported has been the increase in quantum outputs of the background ( $F_0$ ), the maximum fluorescence ( $F_m$ ) and also the increase of efficiency of use of light energy ( $F_0/F_m$ ) in the mountainous samples (1100 m asl). Noted is the increase in the total content of pigments ( $F_0/F_m$ ) in the mountainous samples (1100 m asl). Noted is the increase in the total content of pigments ( $F_0/F_m$ ) and carotenoids), the 1,12–1,7 times increase in chlorophyll  $F_0/F_m$  in all the test samples; the lower ratio of ( $F_0/F_m$ ) and carotenoids), the 1,12–1,7 times increase in chlorophyll  $F_0/F_m$  in all the test samples despite the place of growth. Any clear dependence on the accumulation of MDA (lipid peroxidation products) in an altitudinal gradient has not been fixed; marked have been changes in the content of MDA on the varietal characteristics. Activity photoreduction of ferricyanide and non-cyclic photophosphorylation suggests differences in organization of the contents of the photosystems and reaction centers of photosystem II with a change in the height of growing cherry trees.

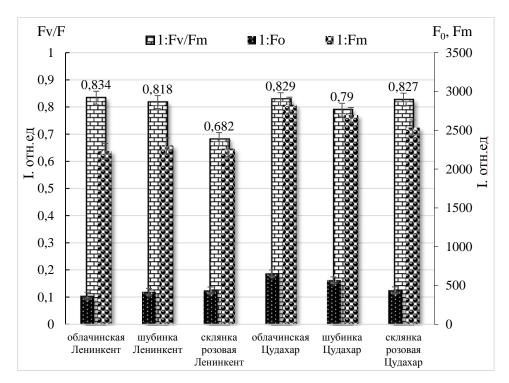
Ключевые слова: фотосинтез; флуоресценция; фотосинтезирующие пигменты; высотный градиент.

Keywords: photosynthesis; fluorescence; photosynthetic pigments; high-rise gradient.

Критерием приспособляемости древесных растений к условиям обитания являются ростовые и репродуктивные процессы, напрямую зависящие от работы фотосинтетического аппарата (ФСА), весьма чувствительного к внешним воздействиям. Одним из общепринятых индикаторов состояния растений служит оценка изменений эффективности первичных процессов фотосинтеза. Значение этого показателя определяется как важностью фотосинтетической функции в жизни растения, так и высокой чувствительностью фотосинтетического аппарата к повреждающим воздействиям. Нарушения в первичных процессах фотосинтеза непосредственно отражаются в изменении флуоресценции хлорофилла а и появляются задолго до видимых ухудшений физиологического состояния растений. Измерение и анализ излучаемой молекулами антенного хлорофилла а флуоресценции превращаются в мощный источник информации о моментном физиологическом состоянии растений, позволяющий проследить конкретные изменения в различных участках фотосинтетического аппарата и выяснить механизм действия данного стресса на исследуемый объект [1-5].

В данной работе объект исследования — вишня сортов Облачинская, Склянка розовая и Шубинка, произрастающие на территории экспериментальных баз Горного ботанического сада ДНЦ РАН, расположенных на разных высотах: Цудахар-

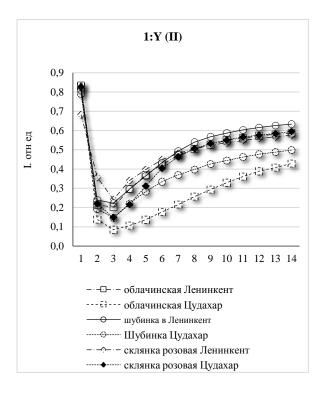
ская - 1100 м, Ленинкентская - 100 м над уровнем моря. Исследования проводились в вегетационный период 2016 г. Листовые пластинки собирали в июле августе. Содержание фотосинтетических пигментов (хлорофиллов a, b и каротиноидов) определяли общепринятым методом абсорбционной спектрофотометрии. Для экстракции пигментов использовали 100%-ный ацетон. Содержание пигментов вычисляли по Лихтентайлеру [6] и выражали в мг/г сырой массы листовых пластинок. Статистический анализ полученных данных проводили с использованием стандартных пакетов Microsoft Excel и Statistica 6. Параметры флуоресценции хлорофилла *а* листьев измеряли с помощью флуориметра MINI-PAM (Pulse Amplitude Modulation) ("Walz, Effelrich", Германия). Измерения проводили на сформированных листовых пластинках в средней части побегов. Для измерений использовали не менее 10 побегов, срезанных с разных ветвей нижнего яруса деревьев. Исследовали динамику изменения фотосинтетической активности растений в течение летних месяцев в зависимости от вертикальной зональности. Полученные нами данные показали увеличение как фоновой  $(F_0)$ , так и максимальной флуоресценции  $(F_m)$  у цудахарских вишневых деревьев относительно ленинкентских (почти в 1,35 раза (рис. 1)), что мы связываем с видовыми особенностями по высотному градиенту, поскольку фоновая флуоресценция  $F_0$  отражает постоянную составляющую флуоресценции, независимую от фотохимических реакций [7], и измеряется до инициации первичных фотохимических процессов, связанных с восстановлением  $\mathcal{Q}_{A}$ .

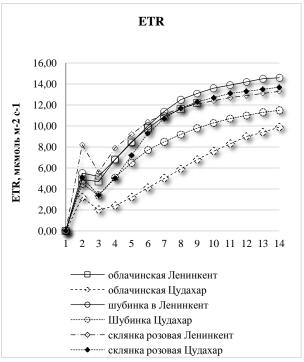


**Рис. 1.** Квантовый выход фоновой  $(F_0)$ , максимальной флуоресценции  $(F_m)$  и эффективность фотосинтеза  $(F_v/F_m)$  ленинкентских и цудахарских сортов вишни по стартовым значениям адаптированных к темноте листьев

Невысокие значения флуоресцентных выходов ( $F_0$  и  $F_m$ ) ленинкентских деревьев сортов Шубинка, Облачинская и Склянка розовая могут свидетельствовать либо об усилении конкурирующего с флуоресценцией процесса – фотохимических

реакций перераспределения зарядов между антенными комплексами и ФС II, либо об увеличении тепловой диссипации в светособирающей антенне ФС2 (нефотохимическое тушение). Кроме того, по литературным данным, величина  $F_0$  зависит от потерь энергии возбуждения при ее миграции по пигментной матрице и может изменяться при воздействии неблагоприятных факторов - высокие или низкие температуры, избыточное освещение и др. [7-9]. Уровень эффективности использования световой энергии ( $F_{
m v}/F_{
m m}$ ) довольно высок и практически одинаков у всех опытных образцов (0,79-0,83), приближаясь к максимальному [9], - это указывает на высокую потенциальную фотосинтетическую активность исследованных растений. Что касается Склянки розовой, то у горных образцов показатель квантового фотосинтеза в 1,2 раза выше относительно ленинкентских (рис. 1). флуоресценции Известно, что уровень зависит окислительновосстановительного состояния первичного акцептора  $\Phi$ CII хинонной природы  $Q_{A}$ , снижение соотношения  $F_{
m v}/F_{
m m}$  может быть обусловлено ингибированием  $\Phi {
m C}$  II и уменьшением доли реакционных центров ФС II [7, 10, 11].



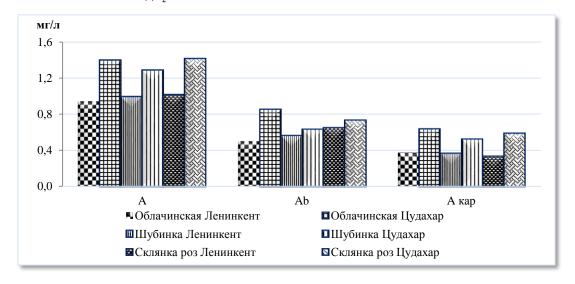


**Рис. 2.** Скорость электронного транспорта в листьях вишневых деревьев. По оси абсцисс – световые вспышки

Изменения интенсивности тепловой диссипации направлены на то, чтобы компенсировать лимитирование электронного транспорта путем безопасной утилизации той части энергии возбуждения, которая не может быть использована для фотохимии. В условиях высокой температуры воздуха тепловая диссипация является процессом, который вносит основной вклад в адаптацию фотосинтетического аппарата к условиям избыточного освещения. Высокий уровень инсоляции, характерный для Цудахара, индуцирует адаптационные изменения в листовых пластинах: изменение площади фотосинтетических мембран, содержания и соотношения фотосинтетических пигментов, размера светособирающих комплексов (ССК), содержания экранирующих и абсорбирующих веществ [1, 10]. В результа-

те адаптации к инсоляции наблюдается уменьшение доли избыточной флуоресценции за счет увеличения интенсивности электронного транспорта, что видно на рис. 2.

Изменение интенсивности фотосинтеза по высотному профилю обратно коррелирует с изменением суммарного содержания хлорофиллов a и b. Сравнение содержания фотосинтетических пигментов в листьях вишневых деревьев, собранных с опытных площадок, выявило изменение соотношений в пигментном составе (рис. 3). При исследовании количественных показателей пигментного состава вишен, растущих на цудахарской пробной площадке (1100 м н.у.м.), нами отмечено увеличение содержания и хлорофиллов, и каротиноидов относительно ленинкентских образцов. Такая закономерность характерна для теневыносливых растений. Интересно, что у опытных образцов, растущих на Гунибском плато (1800 м н.у.м.) [4], нами было зафиксировано достоверное уменьшение общего содержания хлорофиллов a и b и увеличение каротиноидов у деревьев тех же сортов. Соотношение содержания хлорофилла a/b высокое во всех листовых пластинках вишневых деревьев.

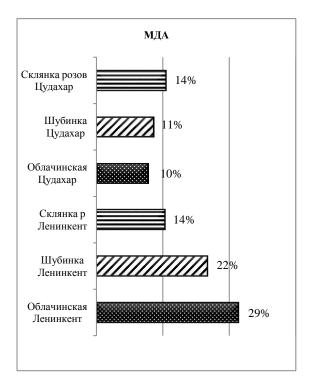


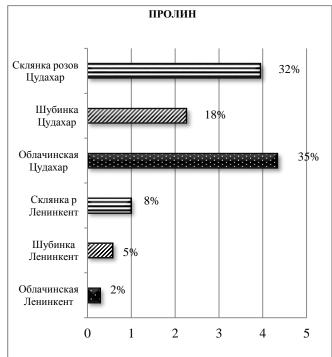
**Рис. 3.** Содержание (мг/л) фотосинтезирующих пигментов у вишен разных сортов с разных высот произрастания

Проведенные нами исследования показали, что на верхних пробных площадях (1100 м н.у.м.) с увеличением содержания зеленых пигментов (рис. 3) изменяется и функциональная активность хлоропластов в листьях вишневых деревьев. Содержание фотосинтетических пигментов может зависеть не только от интенсивности освещения, но и от процессов, происходящих в самом растении: накопления или потребления запасных веществ, интенсивного роста, репродукции и т.д. Одной из широко используемых характеристик фотосинтетического соотношения хлорофиллов и каротиноидов аппарата является показатель (Xл/Kap). На рис. 3 видно, что содержание каротиноидов у «горных» вишен почти в 2 раза выше, чем у ленинкентских, поскольку они выполняют протекторную функцию: на большой высоте интенсивный фон УФ-радиации и высокая инсоляция индуцируют образование активных форм кислорода, что негативно влияет на функциональную активность хлоропластов. Кроме того, каротиноиды могут выступать в роли дополнительных светособирающих пигментов, защищать хлорофиллы и белки ФС реакционных центров (РЦ) от фотодеструкции

Поддержание клеточного гомеостаза у растений при влиянии различных внешних факторов обеспечивается работой целого ряда защитных систем. Любые сильные воздействия окружающей среды вызывают стандартную стресс-реакцию.

Известно, что активация процесса перекисного окисления липидов мембран (ПОЛ) является одной из наиболее ранних реакций на действие стрессора [1, 11]. Продукты ПОЛ могут являться как индукторами, так и первичными медиаторами стресса как особого состояния клетки, которые могут привести к повышению ее резистентности. Мы исследовали интенсивность перекисного окисления липидов в листьях разных сортов вишни по накоплению малонового диальдегида (МДА) (см. рис. 4). В клетках растений наиболее интенсивное образование активных форм кислорода происходит на сопрягающих мембранах





хлоропластов и митохондрий.

**Рис. 4.** Содержание MДА и пролина в листьях вишен по градиенту зональности в процентных соотношениях

Показано (рис. 4), что у вишни сорта Облачинская (Ленинкент) наблюдается увеличение накопления основного продукта ПОЛ - малонового диальдегида (МДА) относительно цудахарского образца в 2,9 раза, в то время как в образцах у сорта Склянка розовая (Цудахар) количество продуктов ПОЛ практически совпадало с аналогичными значениями ленинкентского образца. Накопление МДА обратно коррелирует с содержанием пролина. Видно (рис. 4), что цудахарские образцы отличаются повышенным содержанием пролина. По литературным данным, пролин может участвовать в регуляции окислительновосстановительного баланса клеток путем изменения соотношения НАДФН/НАДФ+. Кроме того, пролин влияет на состояние антиоксидантной системы, что связывают с его прооксидантным действием, которое проявляется при его высокой концентрации в клетках и интенсивном окислении в митохондриях пролиндегидрогеназой с образованием избытка восстановительных эквивалентов. В

стрессовых условиях активация биосинтеза пролина в хлоропластах усиливает расход НАДФН и увеличивает количество НАДФ $^+$ , который может быть использован в качестве акцептора электронов. Таким образом, синтез пролина, снижая соотношение НАДФ $^+$ /, может способствовать поддержанию потока электронов в электрон-транспортных цепях хлоропластов, стабилизировать окислительно-восстановительный баланс и уменьшать фотоингибирование и повреждения фотосинтетического аппарата [12].

Таким образом, в результате проведенных исследований нами отмечено у ленинкентских образцов (1100 м н.у.м.) вишневых деревьев увеличение квантовых выходов фоновой ( $F_0$ ), максимальной флуоресценции ( $F_m$ ) и увеличение эффективности использования световой энергии ( $F_v/F_m$ ); повышение общего содержания пигментов (хлорофиллов a и b и каротиноидов), увеличение в 1,12-1,7 раза содержания хлорофилла b относительно ленинкентских образцов; пониженное соотношение ( $\sum Aa$ , Ab)/Akap — в пределах 3,6 (у ленинкентских деревьев ~4,3). Показано высокое содержание хлорофилла a у всех опытных образцов независимо от места произрастания. Определенной зависимости по накоплению МДА по высотному градиенту нами не зафиксировано, отмечено изменение содержания по сортовым особенностям.

Природные условия, часто являясь активаторами и ингибиторами биоэнергетических процессов, протекающих в тилакоидах растительных клеток, могут оказывать выраженное влияние на эффективности первичных процессов фотосинтеза, нарушения которых отражаются в изменении флуоресценции хлорофилла а и появляются задолго до видимых изменений физиологического состояния растений. Изменение структурных, физиолого-биохимических и биофизических реакций исследуемых растений связано как с сортовыми особенностями растений, так и с высотным градиентом и является следствием действия совокупности абиотических факторов.

## ЛИТЕРАТУРА

- 1. Берри Дж.А., Даунтон У.Дж.С. Зависимость фотосинтеза от факторов окружающей среды // Фотосинтез / под ред. Говинджи. М.: Мир, 1987. Т. 2. С. 273-364.
- 2. Изменение содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях степных растений вдоль широтного градиента на южном Урале / Л.А. Иванов, Л.А. Иванова, Д.А. Ронжина, П.К. Юдина // Физиология растений. 2013. Т. 60, N2 6. С. 856-864.
- 3. Пиняскина А.В., Пиняскина Е.В., Гаджиева И.Х. Влияние солей стронция на биометрические и флуоресцентные показатели и пшеницы // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 6. URL: https://www.scienceeducation.ru/ru/article/view?id=23790 (дата обращения: 14.02.2017).
- 4. Пиняскина Е.В., Маммаев А.Т., Магомедова М.Х.-М. Изучение флуоресцентных показателей фотосинтетической активности берез в зависимости от вертикальной зональности // Изв. Самар. науч. центра. 2015. Т. 17, N 6. С. 248-252.
- 5. Express Monitoring of a Soil System by Measuring Plant Fluorescence Response to Soil Salinity / M.-H.M. Magomedova, A.T. Mammaev, M.U. Alieva and E.V. Pinyaskina // Aridnye Ekosistemy. 2014. Vol. 20, N 1(58). P. 31-34.
- 6. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in Enzymology. 1987. Vol. 148. P. 350-382.
- 7. Рубин А.Б., Кренделееа Т.Е. Регуляция первичных процессов фотосинтеза // Виофизика. 2004. Т. 49,  $\mathbb{N}$  2. С. 239-253.

- 8. Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла а теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений / В.Н. Гольцев, М.Х. Каладжи, М.А. Кузманова, С.И. Аллахвердиев. Москва; Ижевск: Ин-т компьютерных исследований, 2014. 220 с.
- 9. Использование флуоресценции хлорофилла для контроля физиологического состояния зеленых насаждений в экосистемах / П.С. Венедиктов, С.Л. Волгин, Ю.В. Казимир-ко, Т.Е. Кренделева, Г.П. Кукарских, В.В. Макарова, О.Г. Лаврухина, С.И. Погосян, О.В. Яковлева, А.Б. Рубин // Биофизика. 1999. Т. 44, вып. 6. С. 1037-1047.
- 10. Adams W.W., Demmmg-Adams B. Chlorophyll fluorescence as a tool to monitor plant response to then vironment // In: Papageogiou G., Govmdjee (eds.) Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis I Advances in photosynthesis and respiration / Springer, Dordrecht. 2004. Vol. 19. P. 583-604.
- 11. Cavender-Bares J., Bazzaz F.A. From leaves to ecosystems using chlorophyll fluorescence to access photosynthesis and plant function in ecological studies // Ibid. P. 737-755.
- 12. Hare P., Cress W. Metabolic implications of stress in-ducedproline accumulation in plants // Plant Growth Regul. 1997. Vol. 21. P. 79-102.

Поступила в редакцию 26.04.2017 г. Принята к печати 30.06.2017 г.