

РЕАКЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАЗНОВОЗРАСТНЫХ КЛЕТОК МЕЗОФИЛЛА ЯЧМЕНЯ НА ТЕМПЕРАТУРНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

М.Г. Малева¹, О.С. Синенко¹, И.С. Киселева¹, Д. Латовски², К. Стржалка^{2, 3}

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия, *maria.maleva@mail.ru*

²Факультет биохимии, биофизики и биотехнологии, Ягеллонский университет, Краков, Польша, *dariuszlatowski@gmail.com*

³Малопольский центр биотехнологии, Ягеллонский университет, Краков, Польша, *kazimierzstrzalka@gmail.com*

Аннотация. Приведены данные по ответным реакциям фотосинтетического аппарата разновозрастных клеток листа *Hordeum vulgare* L. на кратковременное действие низкой (4 °С) и умеренно высокой (37 °С) температуры. Наилучшее использование световой энергии в процессе фотосинтеза достигается в зоне дифференцированных клеток и сформированных пигментных систем хлоропластов. Более молодые клетки мезофилла используют световую энергию менее эффективно, что приводит к дисбалансу в работе фотосинтетического аппарата.

Ключевые слова: фотосинтетические пигменты, флуоресценция хлорофилла, виолоксантиновый цикл, температурный стресс

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-496-500

Среди абиотических факторов среды колебания температуры менее всего поддаются регуляции. На ранних этапах формирования фотосинтетического аппарата растений эти факторы могут быть критическими для выживания растений [Rodrigues et al., 2015]. В обзоре [Hasanuzzaman et al., 2014] приведены многочисленные данные по изменению содержания фотосинтетических пигментов при низко- и высокотемпературном воздействии у растений. Показано, что даже кратковременное действие неблагоприятной температуры может приводить к существенному снижению содержания хлорофиллов. Кроме того, происходит изменение параметров флуоресценции хлорофилла, свидетельствующее о снижении эффективности работы электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) хлоропластов [Гольцев и др., 2016].

Часто изменению температурного режима сопутствуют и другие стрессовые факторы, например, повышение или снижение уровня освещенности. Известно, что даже относительно слабый свет может подавлять активность фотосинтетического аппарата в условиях холодогового или теплого стресса. Степень фотоингибирования определяется преимущественно инактивацией реакционного центра фотосистемы II (РЦ ФС II), но причины и механизмы, вызывающие эти изменения, могут существенно различаться [Креславский и др., 2007].

Виолоксантиновый цикл (ВКЦ) является одним из наиболее важных фотозащитных механизмов, работающих у высших растений [Latowski et al., 2005]. При высокой интенсивности света результатом активной работы ЭТЦ фотосинтеза является закисление люмена тилакоидов и активация фермента виолоксантин деэпоксидазы. Происходит восстановление эпоксидных групп виолоксантина (Вио) через образование антероксантина (Ант) до зеаксантина (Зеа), который и выполняет фотопротекторную функцию [Latowski et al., 2005; Креславский и др., 2007].

Целью работы было изучить ответные реакции разновозрастных клеток ячменя (*Hordeum vulgare* L.) на кратковременное действие низкой (4 °С) и умеренно высокой (37 °С) температуры: изменение содержания фотосинтетических пигментов,

соотношения пигментов виолоксантинового цикла и параметров флуоресценции хлорофилла.

Работа выполнена на 7-дневных проростках ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта «Ача», выращенных в контролируемых условиях на водопроводной воде при интенсивности ФАР 250 ± 50 мкмоль/(м²с), фотопериоде 14/10 (день/ночь), температуре 24 ± 1 °C/ 20 ± 1 °C (день/ночь) и относительной влажности воздуха 55/70% (день/ночь). Первый лист ячменя освобождали от coleoptilya и формирующегося второго листа и разделяли на 3 зоны: (I) деления, (II) растяжения и (III) дифференцированных клеток. Выделенные зоны помещали в чашки Петри с водопроводной водой и подвергали в течение 6 часов действию разных температур: 4 °C, 24 °C и 37 °C (± 1 °C) при интенсивности освещения 350 ± 50 мкмоль/(м²с). Параметры фотосинтетического аппарата определяли сразу после деления на зоны и через 6 часов температурного воздействия.

Содержание хлорофиллов (Хл *a*, Хл *b*), и каротиноидов (Кар) определяли спектрофотометрически на Jasco V-650 (“Jasco Inc.”, США) в ацетоновых экстрактах (80%). Расчет содержания Хл и Кар проводили согласно [Lichtenthaler, 1987]. Расчет содержания протехлорофиллида (Пхлд) проводили согласно [Brouers and Michel-Wolwertz, 1985]. Содержание пигментов ВКЦ оценивали с помощью жидкостной хроматографии высокого давления с обращенной фазой (HPLC, Agilent 1260 Infinity Diode Array и Multiple Wavelength Detector), как описано [Latowski et al., 2005]. Измерения проводили в 3-4 биологических повторностях.

Для измерения параметров флуоресценции хлорофилла использовали флуориметр Hansatech Pocket PEA (“Hansatech Instruments”, Великобритания). Листья предварительно адаптировали в темноте в течение 15-20 минут. Были определены параметры ОЛР-теста: максимальная фотохимическая эффективность ФС II (F_v/F_m), тотальный индекс производительности ($P_{i\text{total}}$) и поток энергии, поглощаемый одним реакционным центром (ABS/RC). Измерения проводили в 12 биологических повторностях.

Достоверность различий между вариантами оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни при 5% уровне значимости. На рисунках и в таблице представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.

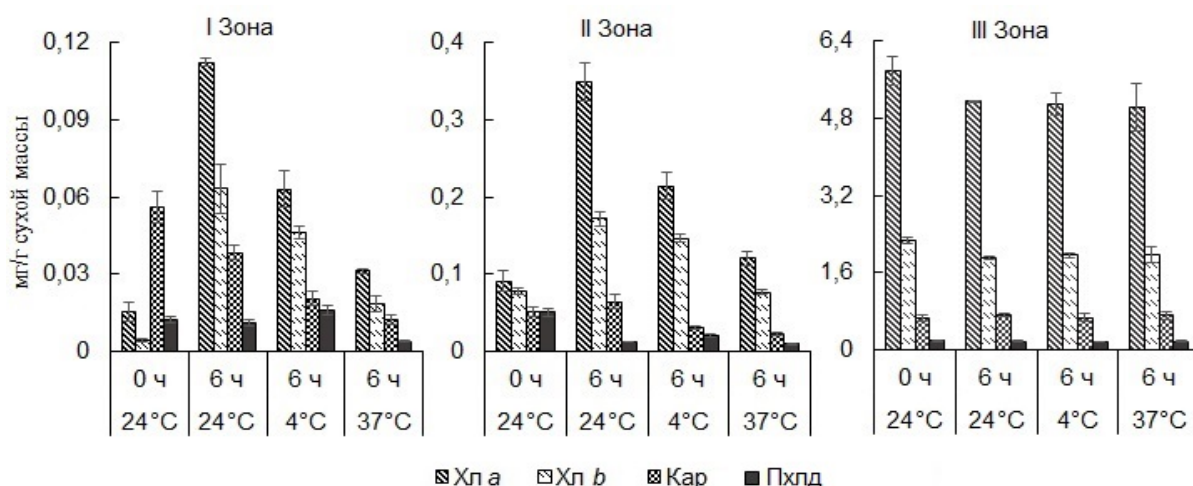


Рис. 1. Содержание фотосинтетических пигментов в разновозрастных клетках мезофилла ячменя при кратковременном действии низкой положительной и умеренно высокой температуры.

После 6 часов освещения при 24 °С (контроль) наблюдалось резкое увеличение содержания хлорофиллов в I и II зонах (в 8,8 и 5,5 раз, соответственно), при этом во II зоне содержание Пхлд снижалось в 4,3 раза, а в I зоне практически не изменялось (рис. 1). Вероятно, во II зоне происходило быстрое превращение ранее синтезированного Пхлд в Хл *a*, тогда как в зоне I увеличение содержания хлорофиллов могло быть обусловлено превращением *de novo* синтезированного Пхлд.

Содержание каротиноидов достоверно снижалось в I зоне, тогда как во II практически не изменялось. При действии 4 °С скорость синтеза хлорофиллов и каротиноидов в I и II зонах замедлялась в сравнении с контрольным вариантом. При этом содержание Пхлд возрастало (в 1,3 и 1,6 раз, соответственно). Температура 37 °С еще больше замедляла синтез фотосинтетических пигментов, включая Пхлд (рис. 1). Таким образом, даже кратковременное действие низкой и умеренно высокой температуры серьезным образом нарушали синтез фотосинтетических пигментов в пропластидах зоны делящихся клеток и в формирующихся хлоропластах клеток на стадии растяжения. В зрелых хлоропластах клеток мезофилла (III зона) температурный стресс практически не вызывал достоверных изменений в содержании пигментов.

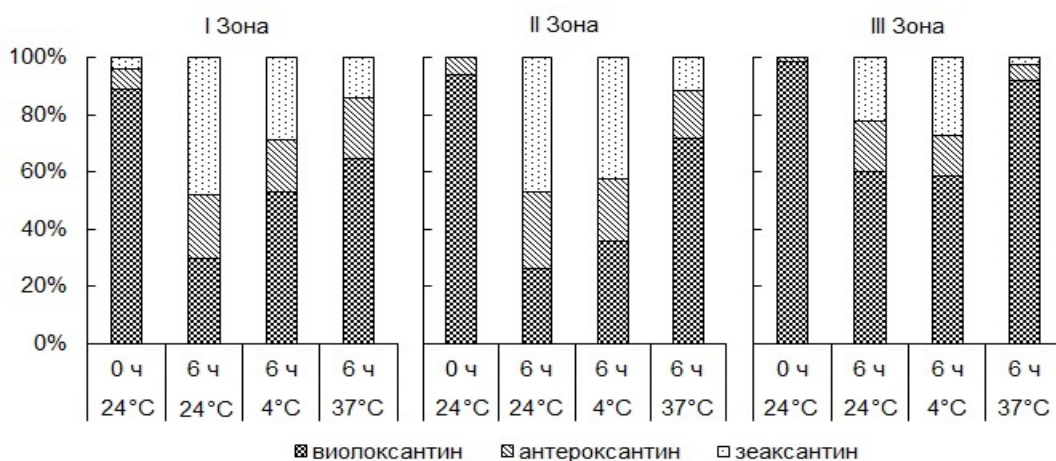


Рис. 2. Изменение соотношения пигментов вилоксантинового цикла в разновозрастных клетках мезофилла ячменя при кратковременном действии низкой положительной и умеренно высокой температуры.

Во всех вариантах опыта добавочный свет в течение 6 часов мог оказывать дополнительное фотоингибирующее действие на фотосинтетический аппарат, особенно в молодых формирующихся клетках. Свидетельством этого является изменение соотношения пигментов ВКЦ (рис. 2).

Снижение уровня Вио можно рассматривать как показатель снижения эффективности фотосинтеза при преобразовании света в энергию химических связей [Latowski et al., 2005; Креславский и др., 2007]. Сильное дезоксидирование Вио, наблюдаемое в I и II зоне, свидетельствует о том, что у более молодых и не завершивших свой рост клеток мезофилла, фотосинтетический аппарат еще не готов к эффективному преобразованию энергии света. В зоне дифференцированных клеток (III) дезоксидирование Вио было выражено слабее, что свидетельствует о более эффективном использовании света в ФС. Данные свидетельствуют о том (рис. 2), что низкая положительная температура (4 °С) вызывала более сильное фотоокисление в сравнении с умеренно высокой (37 °С). Это также подтверждается изменением параметров флуоресценции (таблица).

При низкой температуре, в сравнении с контролем, эффективный квантовый выход ФС II (Fv/Fm) и тотальный индекс производительности (PI_{total}), характеризующий функциональную активность ФС I, ФС II и ЭТЦ, достоверно снижались в I и II зонах. При этом поток энергии, поглощаемый одним активным РЦ (ABS/RC), в этих зонах возрастал, что свидетельствует об уменьшении количества свободных РЦ. При умеренно высокой температуре достоверных изменений этих параметров относительно контроля не выявлено. В зоне зрелых клеток и хлоропластов (III) показатели флуоресценции после 6-часовой экспозиции в разных температурных условиях достоверно не отличались (таблица).

Таблица.

Параметры флуоресценции хлорофилла в разновозрастных клетках мезофилла ячменя при кратковременном действии низкой положительной и умеренно высокой температур

Условия эксперимента	Зоны	Fv/Fm	PI_{total}	ABS/RC
24 °C, 0 ч (контроль)	I	0,742±0,014 b	0,493±0,067 c	2,711±0,137 d
	II	0,756±0,016 b	0,514±0,068 c	2,572±0,148 d
	III	0,825±0,001 a	3,236±0,159 a	1,466±0,018 e
24 °C, 6 ч	I	0,618±0,019 de	0,403±0,052 cd	3,370±0,359 bc
	II	0,644±0,018 de	0,418±0,049 cd	3,217±0,168 bcd
	III	0,786±0,003 ab	2,401±0,123 b	1,509±0,021 e
4 °C, 6 ч	I	0,368±0,031 g	0,056±0,006 e	5,977±0,509 a
	II	0,522±0,020 f	0,287±0,052 d	4,053±0,208 b
	III	0,754±0,010 b	2,425±0,165 b	1,776±0,047 e
37 °C, 6 ч	I	0,620±0,022 de	0,177±0,025 d	3,689±0,217 b
	II	0,691±0,019 cd	0,431±0,072 cd	2,707±0,199 d
	III	0,797±0,004 ab	2,632±0,273 b	1,441±0,027 e

Разными буквами обозначены достоверные различия между вариантами при $p < 0,05$.

Таким образом, результаты исследования показали, что эффективность фотосинтеза зависит как от стадии развития клеток мезофилла ячменя, так и от температурного воздействия. Наилучшее использование световой энергии в процессе фотосинтеза достигается в зоне дифференцированных клеток и сформированных пигментных систем хлоропластов. Более молодые клетки мезофилла, еще не обладающие полностью сформированным фотосинтетическим аппаратом, используют световую энергию менее эффективно, что приводит к дисбалансу в его работе.

Работа поддержана Министерством образования и науки Российской Федерации, соглашение № 02.A03.21.0006.

Литература

Гольцев В.Н., Каладжи Х.М., Паунов М., Баба В., Хорачек Т., Мойски Я., Коцел Х., Аллахвердиев С.И. Использование переменной флуоресценции хлорофилла для оценки физиологического состояния фотосинтетического аппарата растений // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 6. – С. 881–907.

Креславский В.Д., Карпентьер Р., Климов В.В., Мурата Н., Аллахвердиев С.И. Молекулярные механизмы устойчивости фотосинтетического аппарата к стрессу // Биологические мембраны. – 2007. – Т. 24, № 3. – С. 195–217.

Brouers M., Michel-Wolwertz M.-R. Estimation of protochlorophyll(ide) contents in plant extracts; re-evaluation of the molar absorption coefficient of protochlorophyll(ide) //

Photosynthesis Research. –1983. – V. 4. – P. 265–270.

Hasanuzzaman M., Nahar K., Fujita M. Alteration in chlorophylls and carotenoids in higher plants under abiotic stress condition. *In*: Golovko T.K., Gruszecki W.I., Prasad M.N.V., Strzałka K.J. (Eds.) Photosynthetic Pigments: Chemical structure, biological function and ecology. – Komi Sci. Centre Ural Branch RAS, Syktyvkar, 2014. – P. 272–319.

Latowski D., Kruk J., Strzałka K. Inhibition of zeaxanthin epoxidase activity by cadmium ions in higher plants // *J. Inorg. Biochem.* – 2005. – V. 99. – P. 2081–2087.

Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes // *Methods in Enzymology.* – 1987. – V. 148. – P. 350–382.

Rodrigues V.M., Soengas P., Alonso-Villaverde V., Sotelo T., Cartea M.E., Velasco P. Effect of temperature stress on the early vegetative development of *Brassica oleracea* L. // *BMC Plant Biology.* – 2015. – V. 15. – P. 145–153.

REACTION OF PHOTOSYNTHETIC APPARATUS TO TEMPERATURE STRESS IN BARLEY MESOPHYLL CELLS OF DIFFERENT AGE

M.G. Maleva¹, O.S. Sinenko¹, I.S. Kiseleva¹, D. Latowski², K. Strzałka^{2,3}

¹Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin”, Ekaterinburg, Russia, maria.maleva@mail.ru

²Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University, Krakow, Poland, dariuszlatowski@gmail.com

³Malopolska Centre of Biotechnology, Jagiellonian University, Krakow, Poland, kazimierzstrzalka@gmail.com

Abstract. The data on the responses of photosynthetic apparatus in *Hordeum vulgare* L. mesophyll cells of different age to short-term action of low (4 °C) and moderately high (37 °C) temperature are presented. The most efficient use of light energy in photosynthesis is achieved in differentiated cells with fully developed pigment systems. Young mesophyll cells use light energy less efficiently, that leads to an imbalance in the photosynthetic apparatus.

Keywords: photosynthetic pigments, chlorophyll fluorescence, violaxanthin cycle, temperature stress