

## ИЗУЧЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ВИШЕН РАЗНЫХ СОРТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕРТИКАЛЬНОЙ ЗОНАЛЬНОСТИ

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

<sup>1</sup>ФАНО РОССИИ, ФГБУН Прикаспийский институт биологических ресурсов ДНЦ РАН, Махачкала, e-mail: pibrdncran@mail.ru;

<sup>2</sup>ФГБУ ВО ДГУ, Махачкала

Исследовали флуоресцентные параметры листьев вишни сортов Облачинская, Шубинка и Скланка розовая, произрастающих на высоте 1600 м н.у.м. и -28 м ниже у.м. Зафиксировано у «горных» образцов (1600 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 городских образцов; пониженное соотношение  $(A_a+A_b)/A_{кар}$  – в пределах 3,6 (у городских деревьев – ~4,3). Показано высокое содержание хлорофилла *a* у всех опытных образцов независимо от места произрастания. Четкой зависимости по накоплению продуктов ПОЛ (малонового диальдегида) по высотному градиенту нами не зафиксировано, отмечено изменение содержания МДА по сортовым особенностям.

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

## FLUORESCENCE CHARACTERISTICS OF CHERRIES OF DIFFERENT GRADES DEPENDING ON VERTICAL ZONING

Pinyaskina E.V.<sup>1,2</sup>, Pinyaskina A.V.<sup>1</sup>, Mammaev A.T.<sup>1</sup>, Magomedova M.Kh.-M.<sup>1</sup>, Alieva M.Yu.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>FANO RUSSIA, FGBUN Caspian Institute of Biological Resources of Dagestan Scientific Center, RAS, Makhachkala, e-mail: pibrdncran@mail.ru;

<sup>2</sup>Dagestan State University, Makhachkala

Fluorescent settings leaf cherry varieties Oblachinskaya, Shubinka and pink flask, growing at an altitude of 1600 m above sea level and -28 meters below sea level were studied. The increase quantum yields background ( $F_0$ ), maximum fluorescence (of  $F_m$ ) and the increase of efficiency of use of light energy ( $F_v / F_m$ ) from the "mountain" of samples (1600 m asl) cherry trees. It was noted increase in the total content of pigments (chlorophyll *a* and *b* and carotenoids), an increase in 1,12–1,7 times chlorophyll *b* relatively urban sample; low ratio  $(A_a + A_b) / A_{кар}$  - in the range of 3.6 (in urban derevev- ~ 4.3). Displaying high levels of chlorophyll *a* in all test samples independently of the place of growth. A clear dependence on the accumulation of lipid peroxidation products (malondialdehyde) in an altitudinal gradient us is not fixed, marked changes in the content of MDA on varietal characteristics. Activity photoreduction of ferricyanide and non-cyclic photophosphorylation suggests differences in the organization of the contents of the photosystems and reaction centers of photosystem II with a change in the height of growing cherry trees.

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

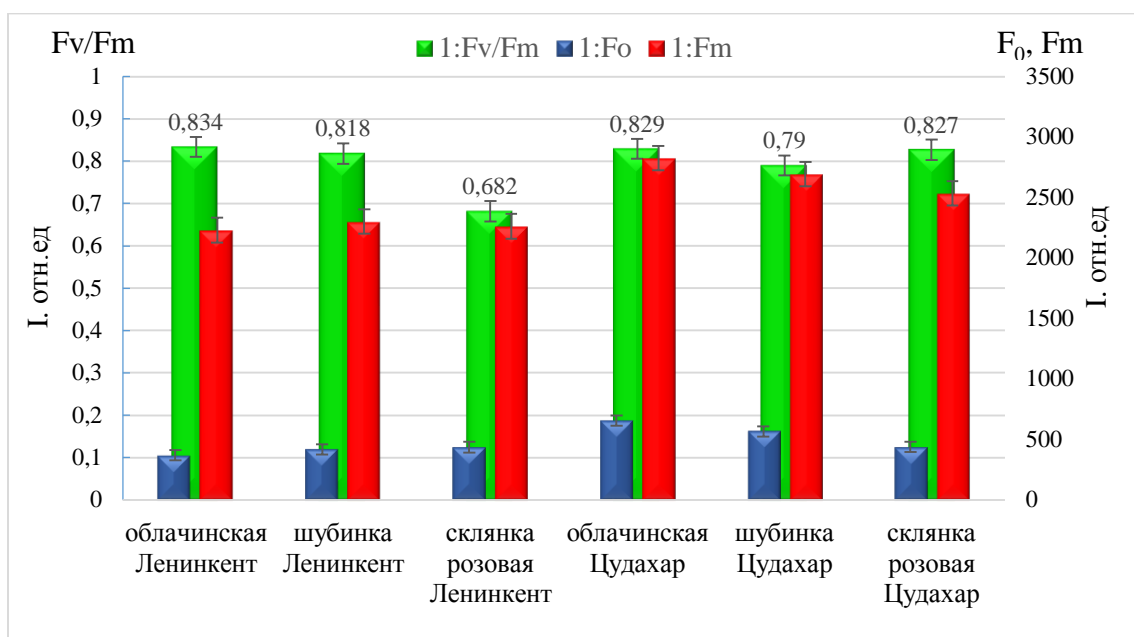
процессах фотосинтеза непосредственно отражаются в изменении флуоресценции хлорофилла *a* и появляются задолго до видимых ухудшений физиологического состояния растений. Измерение и анализ излучаемой молекулами антенного хлорофилла *a* флуоресценции превращается в мощный источник информации о моментном физиологическом состоянии растений, позволяющий проследить конкретные изменения в различных участках фотосинтетического аппарата и выяснить механизм действия данного стресса на исследуемый объект [1,4,5,6,11].

В данной работе объект исследования – вишня сортов *Облачинская*, *Склянкарозовая* и *Шубинка*, произрастающие на территории экспериментальных баз Горного ботанического сада ДНЦ РАН Цудахарская, расположенной на разных высоте 1620, Ленинкентская – 28 м ниже уровня моря. Исследования проводились в вегетационный период 2016 г.

Листовые пластинки березы 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 Лихтенхайлеру [10] 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 a* листьев измеряли с помощью флуориметра MINI-РАМ (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. Проведенные нами исследования флуоресцентных характеристик листовых пластинок «городских» и «высотных» вишневых деревьев проводилось в июле-августе. 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 городских (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  $Q_A$ .



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

Невысокие значениях флуоресцентных выходов ( $F_0$  и  $F_m$ ) городских 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 её миграции по пигментной матрице и может изменяться при воздействии неблагоприятных факторов – высокие или низкие температуры, избыточное освещение и др. [3,7,9].

Уровень эффективности использования световой энергии ( $F_v/F_m$ ) довольно высок и практически равен у всех опытных образцов (0,79-0,83), приближаясь к максимальному [3] – это указывает на высокую потенциальную фотосинтетическую активность исследованных растений. Что касается Склянки розовой – у горных образцов показатель квантового фотосинтеза в 1,2 раза выше относительно городских (рис. 1). Известно, что уровень флуоресценции зависит от окислительно-восстановительного состояния первичного акцептора ФСII хинонной природы,  $Q_A$ , снижение соотношения  $F_v / F_m$  может быть обусловлено ингибированием ФС II и уменьшением доли реакционных центров ФС II [7,8,9].

При анализе параметров потерь квантовых выходов, складывающихся из двух компонентов –  $Y(NO)$ , отражающий долю энергии, пассивно рассеиваемую в виде тепла и флуоресценции, в основном из-за закрытых реакционных центров ФС II и  $Y(NPQ)$  – соответствующий доли энергии, рассеиваемой в виде тепла в результате нефотохимического тушения, видим довольно высокие показатели у Цудахарских образцов по параметру  $Y(NO)$  (рис. 2а) и более высокие значения по параметру  $Y(NPQ)$  у городских вишен (рис. 2б).

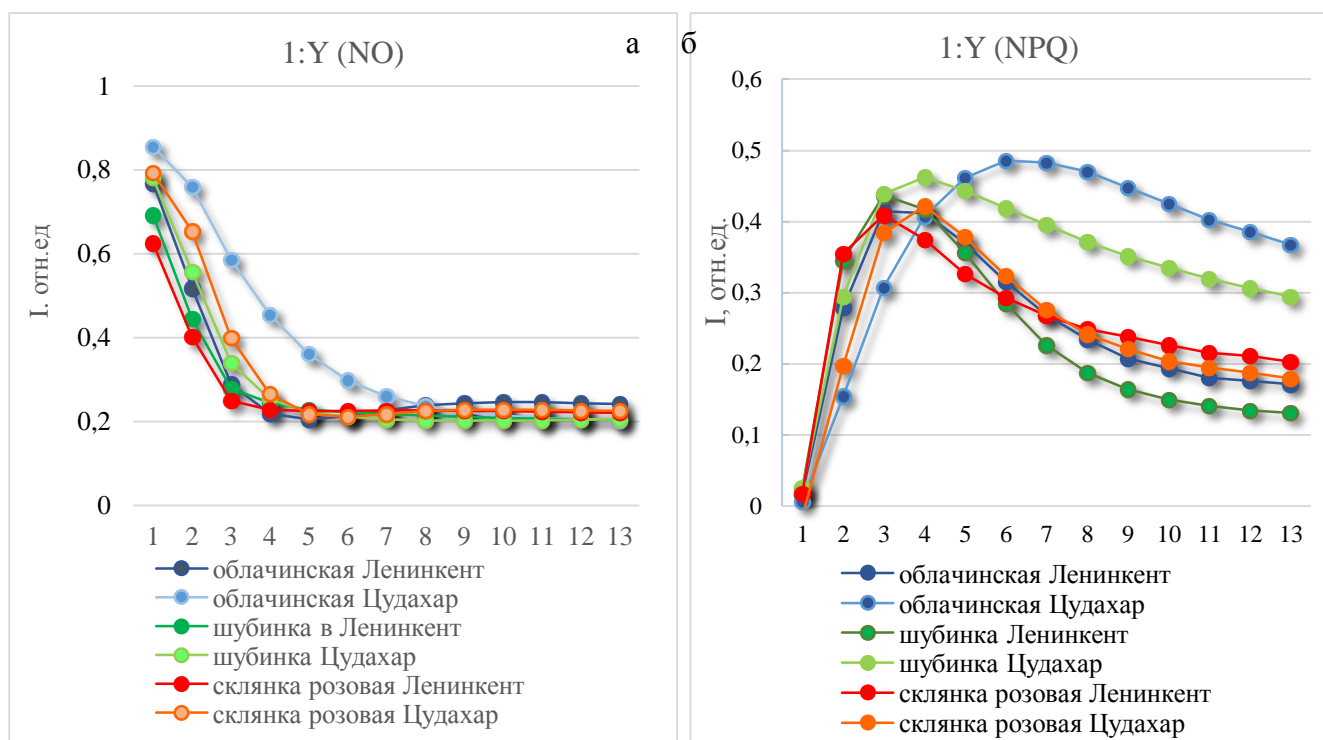


Рис.2. Кинетические кривые  $Y(NO)$ - а и  $Y(NPQ)$  – б адаптированных к темноте листьев

$NPQ$  тесно связан с избыточной энергией света, которая активно рассеивается растением в виде тепла. Изменения интенсивности тепловой диссипации направлены на то, чтобы компенсировать лимитирование электронного транспорта путём 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: изменении площади фотосинтетических мембран, содержания и соотношения фотосинтетических пигментов, размера светособирающих комплексов (ССК), содержания экранирующих и абсорбирующих веществ [1,8]. В результате адаптации к инсоляции наблюдается уменьшение доли избыточного света за счет увеличения интенсивности электронного транспорта, что видно на рис. 3.

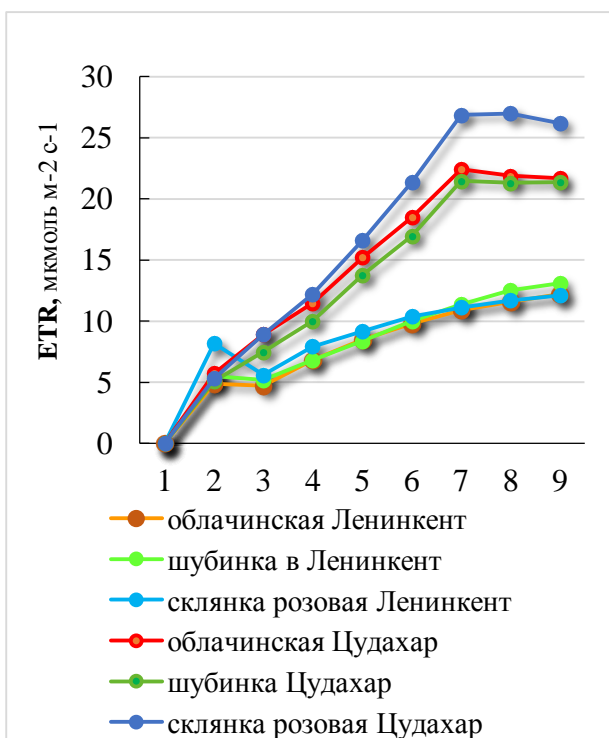


Рис.3. Скорость электронного транспорта в листьях вишневых деревьев. По оси абсцисс-световые вспышки

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. 4). При исследовании количественных показателей пигментного состава вишен, растущих на Цудахарской пробной площадке (1600 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.), нами было зафиксировано достоверное уменьшение общего содержания хлорофиллов *a* и *b* и увеличение каротиноидов у деревьев тех же сортов (рис. 4).

Соотношение содержания хлорофилла *a/b* высоко во всех листовых пластинках вишневых деревьев.

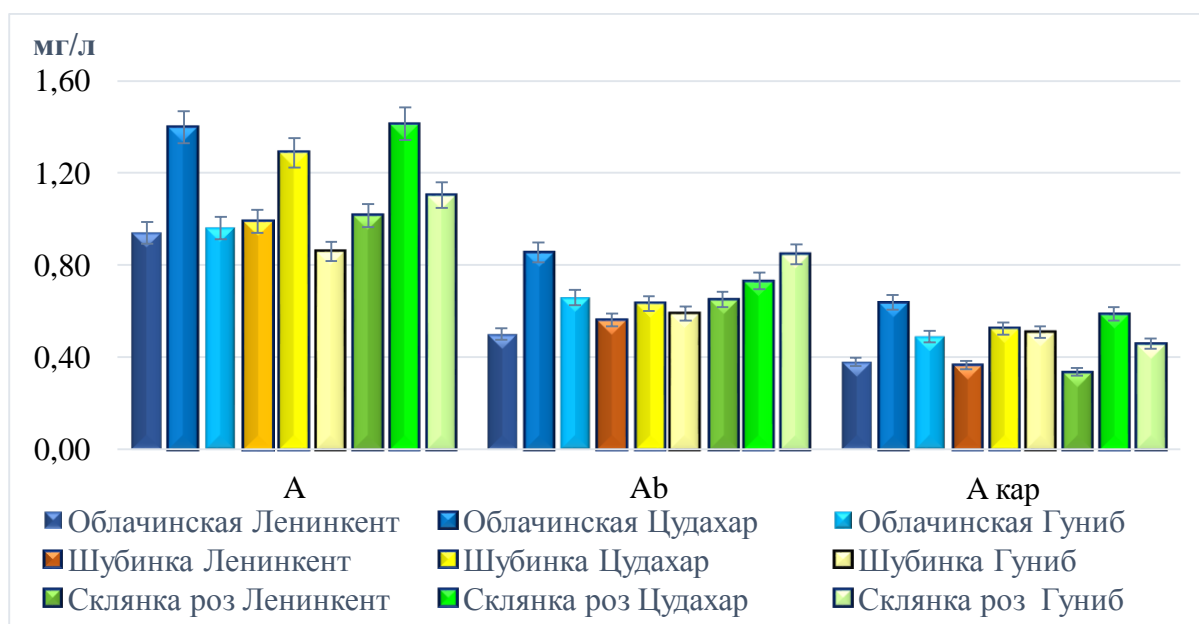


Рис. 4. Содержание (мг/л) фотосинтезирующих пигментов у вишен разных сортов с разных высот произрастания

Проведенные нами исследования показали, что на верхних пробных площадях (1600 м н.у.м.) с увеличением содержания зеленых пигментов (рис.) изменяется и функциональная активность хлоропластов в листьях вишневых деревьев. Активность фотовосстановления феррицианида и нециклического фотофосфорилирования дает основание предполагать о различиях в организации фотосистем и содержании реакционных центров фотосистемы II с изменением высоты произрастания вишневых деревьев.

Содержание фотосинтетических пигментов может зависеть не только от интенсивности освещения, но и от процессов, происходящих в самом растении: накопление или потребление запасных веществ, интенсивный рост, репродукция и т.д. Одним из широко используемых характеристик фотосинтетического аппарата является показатель соотношения хлорофиллов и каротиноидов (Хл/Кар). На рис. 4 видно, что содержание каротиноидов у «горных» вишен почти в 2 раза выше, чем у городских, поскольку 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 и защищать хлорофиллы и белки ФС и реакционных центров (РЦ) от фотодеструкции [8,10]. 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 [1.9]. Продукты ПОЛ могут являться как индукторами, так и первичными медиаторами стресса как особого состояния клетки, который может привести к повышению её резистентности. Мы исследовали интенсивность перекисного окисления липидов в листьях разных сортов вишни по накоплению малонового диальдегида (МДА) ПОЛ, количественное накопление продуктов (см. рис. 5).

В клетках растений наиболее интенсивное образование активных форм кислорода происходит на сопрягающих мембранах хлоропластов и митохондрий.

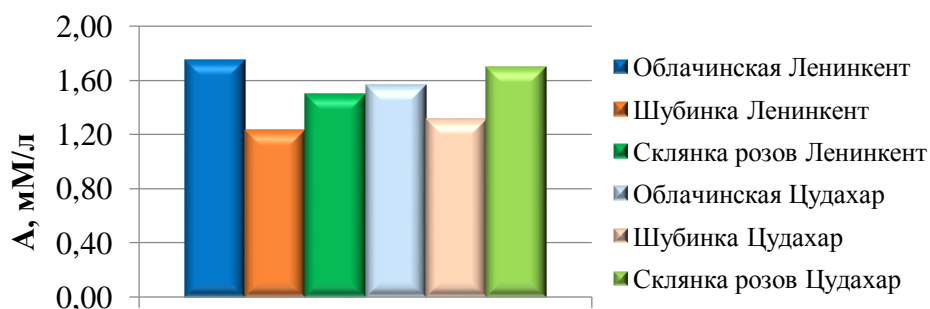


Рис. 5. Содержание продуктов ПОЛ в листьях вишен по градиенту зональности

Показано (рис. 5), что у вишни сорта Облачинская (Ленинцент) наблюдается увеличение накопления основного продукта ПОЛ – малонового альдегида относительно Цудахарского образца, в то время как в образцах у сорта Складья розовая (Цудахар) количество продуктов ПОЛ в 1,22 раза превышало аналогичные значения Ленинцентского образца.

Таким образом, в результате проведенных исследований нами зафиксировано у «горных» образцов (1600 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 городских образцов; пониженное соотношение  $(A_a+A_b)/A_{кар}$  – в пределах 3,6 (у городских деревьев – ~4,3). Показано высокое содержание хлорофилла  $a$  у всех опытных образцов независимо от места произрастания. Четкой зависимости по накоплению продуктов ПОЛ (малонового диальдегида) по высотному градиенту нами не зафиксировано, отмечено изменение содержания МДА по сортовым особенностям.

Следует отметить, что 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  $a$  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 являются следствием действия совокупности абиотических факторов.

### Список литературы

1. Берри Дж.А., Даунтон У.Дж.С. Зависимость фотосинтеза от факторов окружающей среды [Текст] / Дж.А. Берри, У.Дж. С. Даунтон // Фотосинтез / под ред. Говинджи. – М.: Мир, 1987. – Т. 2. – С. 273-364.
2. Венедиктов П.С. Использование флуоресценции хлорофилла для контроля физиологического состояния зеленых насаждений в городских экосистемах [Текст] / П.С. Венедиктов, С.Л. Волгин, Ю.В. Казимирко, 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.
3. Гольцев В.Н. Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла  $a$  – теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений [Текст] / В.Н. Гольцев, М.Х.

Каладжи, М.А. Кузманова, С.И. Аллахвердиев. – М.; Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2014. – 220 с.

4. Иванов Л.А. Изменение содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях степных растений вдоль широтного градиента на южном Урале [Текст] / Л.А. Иванов Л.А. Иванова, Д.А. Ронжина, П.К. Юдина // Физиология растений. – 2013. – Т.60. – № 6. – С.856-864.

5. Пиняскина А.В. Влияние солей стронция на биометрические и флуоресцентные показатели и пшеницы [Текст] /А.В. Пиняскина, Е.В. Пиняскина, И.Х. Гаджиева // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 6; URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=23790>.

6. Пиняскина Е.В. Изучение флуоресцентных показателей фотосинтетической активности берез в зависимости от вертикальной зональности [Текст] / Е.В. Пиняскина, А.Т. Маммаев, М.Х-М. Магомедова // Известия Самарского научного центра. – 2015. – Т. 17. – № 6. – С. 248-252.

7. Рубин А.Б. Регуляция первичных процессов фотосинтеза [Текст] / А.Б. Рубин, Т.Е. Кренделеев // Биофизика. – 2004. – Т 49, № 2. – С 239-253.

8. Adams W.W. Chlorophyll fluorescence as a tool to monitor plant response to then vironment [Текст]/ W.W. Adams, B. Demmmg-Adams // In: Papageogiou G., Govmdjee (eds.) Chlorophyll a fluorecence: a signature of photosynthesis I Advances in photosynthesis and respiration / Springer, Dordrecht. – 2004. – Vol. 19. – P. 583-604.

9. Cavender-Bares J., From leaves to ecosystems using chlorophyll fluorescence to access photosynthesis and plant function in ecological studies [Текст] / J. Cavender-Bares, F.A. Bazzaz// In: Papageogiou G., Govmdjee (eds.) Chlorophyll a fluorecence: a signature of photosynthesis / Advances in photosynthesis and respiration / Springer, Dordrecht. – 2004. – Vol. 19. – P. 737-755.

10. Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes [Text] / H. K. Lichtenthaler / Methods in enzymology. – 1987. – № 148. – P.350-382.

11. Magomedova M.H.M. Express Monitoring of a Soil System by Measuring Plant Fluorescence Response to Soil Salinity [Text] /М.Н.М. Magomedova, А.Т. Маммаев, М.У. Alieva, and E.V. Pinyaskina // Aridnye Ekosistemy. –2014. – Vol. 20. – №. 1(58). – P. 31-34.