



С.В.Лазаревич, кандидат биологических наук

Белорусская государственная сельскохозяйственная академия

УДК 633.11:581.1.035.7

Особенности фотосистемы II у видов полиплоидного ряда пшеницы

С помощью флуориметра PAM101-102-103 определены показатели флуоресценции хлорофиллов у 23 видов полиплоидного ряда пшеницы, а также у 3 андрогенных гаплоидов T.aestivum, выращенных в теплице с регулируемым климатом. На их основе рассчитаны параметры фотосистемы II. Проведенные исследования выявили видовые особенности фотосистемы II у пшеницы. Установлено значительное варьирование ее параметров в группе диплоидов. Объединение исходных геномов на более высоких уровнях плоидности приводило к стабилизации изучаемых параметров и изменению их значений. Полученные результаты позволяют предполагать о структурных преобразованиях фотосистемы пшеницы в ходе эволюции.

Важнейшей культурой мирового земледелия является пшеница, которая обладает уникальной экологической пластичностью и высоким потенциалом продуктивности [1]. При оптимальном уровне жизнеобеспечения растений в полевых условиях пшеница способна дать 20–30 т зерна с гектара [2].

В связи с разработкой проблем биологического земледелия в лабораториях мира большое внимание уделяется физиологическим критериям селекции, в том числе показателям фотохимического потенциала растений [3]. Разработка этих критериев привела к углублению представлений об особенностях биохимии и физиологии фотосинтеза в полиплоидном ряду пшеницы. В частности было установлено влияние организации генома на строение фотосистемы II и ее активность. Так, Evans et Dustone [4] определили, что фотосинтетическая активность единицы листовой поверхности у диплоидных пшениц выше, чем у тетра- и гексаплоидных видов. Диплоиды характеризуются также более высокой интенсивностью реакций Хилла [5] и фотофосфорилирования [6]. Опыты, проведенные на изолированных хлоропластах, показали разную скорость транспорта электронов и разную активность цикла Кальвина у разных видов пшеницы [7].

Генетический контроль физиолого-биохимических параметров фотосистем установлен в отечественных [8] и зарубежных [9, 10] лабораториях.

В связи с разработкой портативных приборов в последние годы активно изучаются показатели флуоресценции хлорофиллов [3, 11, 12]. Фундаментальные исследования в этой области были выполнены Kautsky et Hirsch [цит. по 3], Navaux et al. [13] и другими учеными [12, 14, 15].

Целью наших исследований было сравнительное изучение параметров фотосистемы II, рассчитываемых

Indices of chlorophyll fluorescence of 23 varieties of a polyploid wheat set as well as of 3 androgene haploids T.aestivum grown in a hot-house with regulated climate were defined with the fluorometer PAM101-102-103. Parameters of the photosystem were established on their basis. The research done showed variety peculiarities of the photosystem of wheat. Great variation of its parameters in the diploid group was found out. Joining up of the initial genomes at higher levels of ploidy resulted in stabilization of the studied parameters and changing their indices. The obtained data are supposed to indicate structural transformations of the wheat photosystem in the cause of evolution.

по показателям флуоресценции хлорофиллов, в полиплоидном ряду пшеницы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА. В качестве исходного материала было изучено 28 образцов пшеницы и эгилопса, полученных из коллекций ВИР, INRA и ENSAT (Франция). Этот материал был представлен 7 диплоидами, 10 тетраплоидами, 6 гексаплоидами, 2 октоплоидами, а также 3 гаплоидными аналогами мягкой пшеницы, полученными нами методом культуры пыльников (табл. 1). С учетом того, что интенсивность флуоресценции изменяется в ходе онтогенеза и зависит от физиологического состояния растений [3, 16], исследуемые образцы выращивались в теплице с регулируемым климатом при 16-часовом световом дне, при температуре 25°C днем и 15°C ночью. Полив и подкормки растений были автоматическими. Измерение параметров флуоресценции выполнялось на флуориметре PAM101-102-103 (H. Walz, EFFELTRICH, Германия) с автоматической регистрацией их значений на компьютере по программе ДА-100. Исследования проводились в 6-кратной повторности в начале цветения растений в нижней трети флагового листа после 30-минутной экспозиции растений в темноте. Для достижения равенства испытуемых площадей листа у разных видов пшеницы была использована кадрирующая рамка из плотной черной бумаги. Средние значения параметров флуоресценции были рассчитаны по программе STATITCF. Эта же программа была использована при проведении дисперсионного анализа результатов исследований.

Результаты и обсуждение. При попадании луча света на вегетирующее растение в нем происходит сложное распределение поглощенной энергии [13]. Часть энергии передается от антенных комплексов к первичным акцепторам фотосистемы II (ФСII). Кроме того, осуществляются потоки энергии от антенн ФСII к ан-

Таблица 1. Геномный состав и происхождение изучаемых образцов пшеницы и эгилопса

Вид	Геном	Происхождение
1. <i>T. boeoticum</i> Boiss.	Au	k-68183 INRA
2. <i>T. urartu</i> Thun. ex Gandil.	Au	k-78089 INRA
3. <i>Ae. speltoides</i>	Bsp	k-3 ENSAT
4. <i>Ae. longissima</i>	Bl	k-8 ENSAT
5. <i>Ae. squarrosa</i> ssp. <i>strangul.</i>	Dstr	k-10 ENSAT
6. <i>T. monococcum</i> L.	Ab	k-46750 ВИР
7. <i>T. sinskajae</i> Filat. et Kurk.	Ab	k-48993 ВИР
8. <i>T. dicoccoides</i> Koern.	AuBl	k-5201 ВИР
9. <i>T. dicoccum</i> Schrank.	AuBl	k-7502 ВИР
10. <i>T. timopheevii</i> Zhuk.	AbBsp	k-20541 ВИР
11. <i>T. turgidum</i> L.	AuBl	k-39144 ВИР
12. <i>T. durum</i> Desf. "Augusto"	AuBl	k-58089 ВИР
13. <i>T. durum</i> Desf. "85-SA-46"	AuBl	k-46 ENSAT
14. <i>T. turanicum</i> Jakubz.	AuBl	k-39167 ВИР
15. <i>T. aethiopicum</i> Jakubz.	AuBl	k-19398 ВИР
16. <i>T. polonicum</i> L.	AuBl	k-23562 ВИР
17. <i>T. persicum</i> Vav.	AuBl	k-13768 ВИР
18. <i>T. spelta</i> L.	AuBlDstr	k-15016 ВИР
19. <i>T. compactum</i> Host.	AuBlDstr	k-5167 ВИР
20. <i>T. sphaerococcum</i> Persiv.	AuBlDstr	k-ENSAT
21. <i>T. aestivum</i> L. "Pavon"	AuBlDstr	k-ENSAT
22. <i>T. aestivum</i> L. "BTX"	AuBlDstr	k-ENSAT
23. <i>T. zhukovskiyi</i> Men. et Er.	AbAbBsp	k-43062 ВИР
24. <i>T. timonovum</i> Heslot et Ferr.	AbAbBspBsp	k-43065 ВИР
25. <i>T. fungicidum</i> Zhuk.	AbAuBlBsp	k-ENSAT
26. Гаплоид <i>T. aestivum</i> "Pavon"	AuBlDstr	
27. Гаплоид <i>T. aestivum</i> "BTX"	AuBlDstr	
28. Гаплоид <i>T. aestivum</i> "M"	AuBlDstr	

теннам фотосистемы I, а также между антеннами ФСII. Когда же пластохинон ФСII полностью восстановлен и реакционный центр закрыт, наблюдается обратный ток энергии к антенне ФСII. Частично поглощенная энергия рассеивается в виде тепла, а также в форме флюоресценции. Причем в пределах эффективных температур флюоресцируют лишь хлорофиллы ФСII [11,12,13].

В проведенном эксперименте под влиянием модулированного красного света, имевшего очень низкую интенсивность (0,01 мкмоль фотонов/м²/сек), возникал исходный уровень флюоресценции (F₀). Он контролировался системой РАМ-101 и не индуцировал эффекта Каутского [12]. Уровень флюоресценции F_{m1} контролировался системой РАМ-102 и создавался включением источника актинированного света большой интенсивности (640 мкмоль фотонов/м²/сек). Для этого использовалась галогеновая лампа 150 W (Osram Xenoplott HLX).

Для разделения фотохимической (qP) и нефотохимической (qNP) компонент угасания флюоресценции от ее пикового уровня F_p до некоторого уровня F_v был использован насыщающий свет интенсивностью 5300 мкмоль фотонов/м²/сек, который подавался короткими импульсами (0,8 сек) и контролировался системой РАМ-103. Такое освещение вызывало у изучаемых растений полное восстановление первичных акцепторов ФСII. При этом элиминировалась фотохимическая компонента угасания флюоресценции и эффект Каутского определялся лишь величиной qNP. Полное максимальное значение энергии флюоресценции (F_m) достигалось при первой же подаче насыщающих световых импульсов. На

основе первичной информации о флюоресценции были рассчитаны некоторые параметры фотосистемы II:

1. величина $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$, которая оценивает относительное количество потенциально активных реакционных центров [14], а следовательно, потенциальную фотохимическую эффективность ФСII;

2. величина $\phi_{ФСII} = (F_m1 - F_v)/F_m1$, которая является относительным показателем квантового выхода фотосинтеза [15];

3. величина $qP = (F_m1 - F_v)/(F_m1 - F_0)$, коэффициент фотохимического угасания флюоресценции [12];

4. величина $qNP = F_m/F_m1 - 1$, коэффициент нефотохимического угасания флюоресценции [12];

5. величина $SVo = F_0/F_01 - 1$, показатель термического рассеяния энергии; где F₀₁ – остаточный уровень флюоресценции после отключения источника актинированного света [3].

Дисперсионный анализ выявил существенное влияние разнообразия изученных генотипов на варьирование параметров фотосистемы II. Фактические значения критерия F значительно превышали F теор. на 0,01 уровне значимости по всем анализируемым признакам (табл.2). Значительной стабильностью по повторениям и образцам (CV=0,9%) выделялось относительное количество потенциально активных реакционных центров (F_v/F_m). Сильное варьирование между образцами (CV=33,2%) было установлено по показателю термического рассеяния энергии (SVo). Примечательно, что наибольшая изменчивость параметров ФСII было характерной для группы диплоидных видов. Объединение геномов исходных форм на уровне тетра- и гексаплоидов приводило к стабилизации признаков в пределах группы пloidности (табл.3). Например, у диплоидов амплитуда варьирования $\phi_{ФСII}$ составляла 0,18 единиц, у тетраплоидов – 0,12 и у гексаплоидов – 0,9. По признаку qP эти величины были равны соответственно 0,43; 0,17 и 0,12; по qNP – 1,20; 0,76 и 0,62. Показатели гаплоидов мягкой пшеницы несущественно отличались от значений исходных сортов. Эти факты позволяют предположить, что параметры флюоресценции у пшеницы в первую очередь определяются физиологическими эффектами геномов и их аддитивным действием у полиплоидов и во вторую – числом хромосом в геноме.

Сравнение изучаемых параметров ФСII у разных по набору хромосом групп пшеницы показывает, что с увеличением числа хромосом значения F_v/F_m и qNP сначала возрастают от группы диплоидов до группы тетраплоидов, а затем постепенно снижаются у гексаплоидов и октоплоидов. Тенденция к такому же изменению

Таблица 2. Статистические показатели параметров фотосистемы II у видов пшеницы

Параметр	F _φ	F ₀₁	CV(%)
F _v /F _m	5,50	1,95	0,9
$\phi_{ФСII}$	2,71	1,95	19,1
qP	2,77	1,95	17,3
qNP	9,89	1,95	14,2
SVo	5,91	1,95	33,2

Таблица 3. Значения параметров фотосистемы II у видов пшеницы и эгилопса

Вид	Параметры				
	Fv/Fm	φФСII	qP	qNP	Svo
1. T.boeoticum	0,81	0,29	0,56	1,79	0,13
2. T.urartu	0,80	0,28	0,72	1,90	0,15
3. Ae.speltoides	0,80	0,16	0,29	1,78	0,18
4. Ae.longissima	0,80	0,34	0,61	1,31	0,07
5. Ae.squarrosa	0,80	0,22	0,46	2,24	0,22
6. T.monococcum	0,81	0,25	0,45	1,57	0,11
7. T.sinskajae	0,81	0,23	0,36	1,04	0,04
8. T.dicoccoides	0,83	0,25	0,46	2,02	0,11
9. T.dicoccum	0,83	0,24	0,49	2,23	0,10
10. T.timopheevii	0,82	0,29	0,49	1,47	0,07
11. T.turgidum	0,83	0,26	0,48	2,16	0,12
12. T.durum "Augusto"	0,83	0,28	0,49	1,79	0,11
13. T.durum "85-SA-46"	0,82	0,36	0,63	1,56	0,10
14. T.turanicum	0,83	0,29	0,51	1,96	0,15
15. T.aethiopicum	0,83	0,33	0,57	1,63	0,07
16. T.polonicum	0,82	0,26	0,46	1,92	0,16
17. T.persicum	0,83	0,25	0,46	1,91	0,11
18. T.spelta	0,83	0,24	0,46	2,16	0,11
19. T.compactum	0,83	0,25	0,53	1,99	0,12
20. T.sphaerococcum	0,82	0,32	0,54	1,48	0,07
21. T.aestivum "Pavon"	0,82	0,28	0,53	1,99	0,12
22. T.aestivum "BTX"	0,82	0,23	0,43	1,99	0,15
23. T.zhukovskiy	0,82	0,32	0,55	1,53	0,07
24. T.timonovum	0,82	0,31	0,50	1,16	0,04
25. T.fungicidum	0,82	0,32	0,61	1,84	0,10
26. T.aest. "Pavon" гаплоид	0,81	0,26	0,50	1,83	0,13
27. T.aest. "BTX" гаплоид	0,82	0,34	0,61	1,67	0,11
28. T.aest. линия M гапл.	0,80	0,20	0,39	2,11	0,34
НСР 0.01	0,01	0,08	0,13	0,38	0,05

наблюдалась и по параметру термического рассеяния энергии. Однако статистически достоверным было лишь снижение величины Svo у октоплоидов (табл.4). По признакам φФСII и qP существенных различий на 0,01 уровне значимости у разных по набору хромосом групп пшеницы обнаружено не было.

Сопоставление полученных результатов с данными других исследователей о повышенном содержании хлорофилла в единице зеленой массы у этих пшениц [7] позволяет предположить, что фотосистемы диплоидных видов имеют более крупные светособирающие комплексы. Эволюционный переход пшениц на тетраплоидный и гексаплоидный уровень, вероятно, привел к уменьшению размеров антенных комплексов и увеличению числа реакционных центров, изменив при этом эффективность использования растениями интенсивного освещения.

Таблица 4. Средние значения параметров фотосистемы II у разных генетических групп пшеницы

Генетическая группа	Параметры				
	Fv/Fm	φФСII	qP	qNP	Svo
2n = 14	0,807	0,27	0,50	1,499	0,107
2n = 28	0,829	0,28	0,50	1,988	0,110
2n = 42	0,825	0,26	0,49	1,942	0,109
2n = 56	0,817	0,31	0,51	1,190	0,056
2n = 21	0,808	0,27	0,51	1,853	0,157
НСР 05	0,008	0,03	-	0,304	0,027
НСР 01	0,011	-	-	0,412	0,037

ЛИТЕРАТУРА

- Doussinault G., Kaan F., Lecomte C., Monneveux P. Les cereales a paille: presentation generale. // Amelioration des especes vegetales cultivees. Objectifs et criteres de selection. INRA. – Paris, 1992. – P.13–15.
- Пшеницы мира / В.Ф.Дорофеев, Р.А.Удачин, Л.В.Семенова и др.; Под ред. В.Ф.Дорофеева. – 2-е изд., перераб. и доп. – Л.: ВО Агропромиздат, 1987. – 560 с.
- Berger M. Amelioration genetique de la productivite, genes de nanisme et photosynthese chez le ble tendre (Triticum aestivum L.). These de Doctorat de l'INP de Toulouse, 1991.
- Evans L.T., Dustone R.L. Some physiological aspects of evolution in wheat // Aust.J.Biol.Sci. 1970, 23. – P725–741.
- Zelenskii M.J., Mogileva G., Shitova J., Fattakhova F. Hill reaction of chloroplasts from some species, varieties and cultivars of wheat // Photosynthetica. – Praha, 1978, v.12(4). – P.428–435.
- Sinha S.K., Khanna R. Developmental changes of photophosphorylation rate in wild and cultivated wheats // Photosynthetica. 1972, 6(2). – P.195–196.
- Hicke B. Photosynthetic electron transport of isolated chloroplasts and its relation to shoot biomass production in seedlings of selected evolutionary forms of wheat // Photosynthetica. 1983, 17(4). – P.578–589.
- Пухальский В.А., Пискунова Н.П., Гинс В.К. Генетическая детерминация признака фотохимической активности хлоропластов листьев яровой пшеницы // Доклады ВАСХНИЛ, 1984, 7. – С.2–4.
- Austin R.V. Genetic variation in photosynthesis // J.Agric. Sci.Cambr. 1989, v.112. – P.287–294.
- Carver B., Jonson R.C., Rayburn L. Genetic analysis of photosynthetic variation in hexaploid and tetraploid wheat and their interspecific hybrids // Photosynth.Res. 1989, v.20. – P.105–118.
- Bolhar-Nordencamp H.R. and Oquist G. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research // Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual. – London, Chahman & Hall. 1993. – P.193–206.
- Schreiber U., Schliwa U., Bilger W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical fluorescence quenching with a new type of a modulation fluorometer // Photosynth.Res. 1986, 10. – P.51–62.
- Havaux M., Strasser R.J., Greppin H. A theoretical and experimental analysis of the qP and qN coefficients of chlorophyll fluorescence quenching and their relation to photochemical and non photochemical events // Photosynth.Res. 1991, 27. – P.41–55.
- Demmig B., Bjorkman O. Comparaison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O2 evolution in leaves of higher plants // Planta.Germany. 1987, v.171. – P.171–184.
- Genty B., Briantais J.M., Baker N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence // Biochim.Biophys.Acta. 1989, 990. – P.87–92.
- Рубин Б.А. Курс физиологии растений. Изд.4-е, перераб. и доп. М.: Высшая школа, 1976. – С.99.