



С.В.Лазаревич, кандидат биологических наук
Белорусская сельскохозяйственная академия

УДК 633.11

Корреляционный анализ параметров фотосистемы II и морфолого-анатомических признаков у видов пшеницы

На растениях 23 видов пшеницы, выращенных в теплице с регулируемым климатом, изучены параметры флуоресценции хлорофиллов, а также выполнены морфологические и анатомические исследования. Полученные данные использованы для корреляционного анализа параметров фотосистемы II, а также для оценки их связи с морфологическими и анатомическими признаками растений. В исследованиях установлена существенная связь относительного количества реакционных центров (F_v/F_m) с шириной флагового листа и диаметром стебля в верхних междоузлиях, а также с развитием проводящих пучков.

Полученные данные могут быть использованы для объяснения путей эволюции пшеницы, а также для составления селекционных программ.

Анализ путей эволюции имеет большое значение для систематики растений [1], а также для разработки селекционных программ для культурных растений [2]. Если полиплоидный ряд пшеницы представить как одну генеральную совокупность, то отдельные, входящие в неё виды, могут рассматриваться как репрезентативные выборки, а сопоставление признаков этих выборок позволяет составить картину эволюционных преобразований рода.

Изучение генетической дивергенции видов в большинстве случаев основывается на изучении морфологических [2], цитологических [3, 4] и биохимических [5] признаков. Надёжность их использования для выявления межвидовых различий достаточно велика. Вместе с тем большой интерес для систематики и селекции представляет использование данных по анатомии и физиологии растений и других наук.

В последние годы в разных лабораториях мира большое внимание уделяется показателям флуоресценции хлорофиллов, интерпретация которых была дана Kautsky M. и Hirsch A. [6] и в дальнейшем была развита в работах Krause G.H. и Weis E. [7], а также других исследователей [8, 9, 10]. Параметры флуоресценции используются для оценки разных генотипов пшеницы [12, 13], а также для изучения их стрессоустойчивости [13, 14].

Анатомические исследования для целей систематики и идентификации продуктивных генотипов были выполнены Градчаниновой О.Д. [15], Тетерятченко К.Г. [16] и рядом других авторов.

Морфологические, анатомические, физиологические и другие признаки в полиплоидном ряду пшеницы на-

Parameters of chlorophyll fluorescence of 23 wheat varieties grown in a hot-house with regulated climate were studied, as well as morphological and anatomy research was carried out. The obtained data are used for coorelation analysis of the parameters of the photosystem II as well as for evaluation of their relation with morphological and anatomy characteristics of the plants. In the given research essencial coorelation of a relative amount of reaction centres (F_v/F_m) with the width of a flag leaf and stem diametre in the upper interknots as well as with the development of the guiding bunches were defined.

The obtained data can be used for explanation of the ways of wheat evolution as well as for making up selection programmes.

ходятся в состоянии динамического равновесия, которое обеспечивает высокую адаптивность пшеницы к условиям обитания. Эти признаки лежат в основе продуктивности и экологической характеристики вида, но их взаимосвязь изучена недостаточно полно. Имеющиеся в литературе сведения о корреляциях у пшеницы [17] чаще всего ограничены одной группой признаков.

Целью наших исследований было изучение корреляционных связей между параметрами фотосистемы II и морфолого-анатомическими признаками растений в полиплоидном ряду пшеницы для последующего их использования при решении задач систематики и селекции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА. Исследования были проведены на коллекции, состоящей из 23 видов пшеницы. Диплоиды были представлены *T.boeoticum* Boiss., *T.urartu* Thum.ex Gandil., *T.monococcum* L., *T.sinskajae* Filat. et Kurk. В этой же группе были три образца эгилонца (*Ae.speltoides*, *Ae.longissima* и *Ae.squarrosa* ssp.*strangulata*), геномы которых были использованы в ходе эволюции для формирования рода *Triticum* L. [5]. В группу тетраплоидов входили *T.dicoccoides* Koern., *T.dicoccum* Schrank., *T.timopheevii* Zhuk., *T.turgidum* L., *T.durum* Desf., *T.turanicum* Jakubz., *T.aethiopicum* Jakubz., *T.polonicum* L., *T.persicum* Vav. Среди гексаплоидов были изучены *T.spelta* L., *T.compactum* Host., *T.spaerococcum* Persiv., *T.aestivum* L. и *T.zhukovskiyi* Men.et Er. Октоплоиды были представлены *T.tivonovum* Hesl.et Ferr., а также *T.fungicidum* Zhuk. Кроме того, в исследования были включены гаплоиды мягкой пшеницы сорта Paven и линий ВТХ и М, созданные нами методом культуры пыльников.

Растения выращивались в теплице с регулируемым климатом в специальных вегетационных сосудах. Длина светового дня составляла 16 часов, дневная температура 25°C, а ночная 15°C. Параметры флюоресценции изучались в 6-кратной повторности на флаговых листьях в период начала цветения растений после 30-минутной экспозиции в темноте. Для измерений был использован флюориметр РАМ101-102-103. Равенство испытуемых площадей листьев изучаемых видов обеспечивалось использованием кадрирующей рамки из плотной чёрной бумаги. Первичные данные были использованы для расчёта характеристик фотосистемы II (ФС II) по программе STATITSE. При этом были рассчитаны следующие параметры:

1. F_v/F_m , который характеризует относительное количество потенциально активных реакционных центров [9];
2. ϕ ФС II, показатель квантового выхода фотосинтеза [10];
3. q_P , коэффициент фотохимического угасания флюоресценции [8];
4. q_{NP} , коэффициент нефотохимического угасания флюоресценции [8];
5. S_{vo} , показатель термического рассеяния энергии, полученной фотосистемой [18].

Сразу же после снятия показателей флюоресценции растения были изучены морфологически, зафиксированы в растворе Кларка и использованы для анатомического анализа. Микропрепараты окрашивались смесью алунированного кармина и зелёного иодного, что позволяло идентифицировать разные типы тканей на поперечных срезах. Изучение микропрепаратов проводилось на компьютерном анализаторе изображений. Корреляционный анализ полученных данных был проведен по программе STATGRAFICS.

Результаты и обсуждение. Анализ полученных результатов проводился поэтапно. Сначала был проведен дисперсионный анализ и оценена существенность различий изучаемых пшениц по параметрам ФС II и морфолого-анатомическим признакам. При этом оказалось, что фактические значения критерия F значительно превышали $F_{теор.}$ на 0,01 уровне значимости. Это подтверждало предположение о генетической дивергентности видов пшеницы по признакам ФС II. Различия между образцами по морфологическим и анатомическим признакам также оказались существенными ($P < 0,01$). Затем был проведен корреляционный анализ параметров ФС II, а также была проанализирована связь параметров ФС II с морфологическими и анатомическими признаками в полиплоидном ряду пшеницы.

Корреляционный анализ показал, что рассеяние энергии в виде флюоресценции мало зависит от величины F_v/F_m (табл.1) и слабо влияет на относительный показатель квантового выхода ($r < 0,3$). В то же время увеличение числа потенциально активных реакционных центров способствовало уменьшению потерь энергии в виде тепла ($r = -0,42 \pm 0,18$). Показатель ϕ ФС II

увеличивался при уменьшении теплового рассеяния энергии и нефотохимического снижения активности флюоресценции. Особенно значимым было увеличение ϕ ФС II в зависимости от фотохимической компоненты эффекта Каутского ($r = 0,84 \pm 0,10$). Перераспределение потока энергии способствовало увеличению эффективности работы ФС II. В то же время усиление q_{NP} приводило к непроизводительным затратам энергии ($r = 0,63 \pm 0,15$).

Таблица 1. Корреляционная связь (r) параметров фотосистемы II в полиплоидном ряду пшеницы

Параметр	ϕ ФС II	q_P	q_{NP}	S_{vo}
F_v/F_m	$0,23 \pm 0,19$	$0,06 \pm 0,20$	$0,20 \pm 0,19$	$-0,42 \pm 0,18^*$
ϕ ФС II		$0,84 \pm 0,10^{**}$	$-0,46 \pm 0,17^*$	$-0,57 \pm 0,16^{**}$
q_P			$-0,11 \pm 0,19$	$-0,31 \pm 0,19$
q_{NP}				$0,63 \pm 0,15^{**}$

Примечание: * – существенно при $P < 0,05$

** – существенно при $P < 0,01$

Для оценки связи параметров ФС II со строением пшеничного растения было использовано 7 морфологических (табл.2) и 18 анатомических признаков (табл.3). С учётом анатомической и физиологической неоднородности метамеров нами для изучения корреляционной связи были выбраны подколосовое и второе сверху междоузлия, а также флаговый лист. Этот выбор обусловлен тем, что в подколосовом междоузлии лучше чем в других развиты тяжи ассимиляционной паренхимы, а второе междоузлие своей проводящей системой непосредственно связано с проводящей системой флагового листа. Флаговый же лист играет важную роль в формировании продуктивности пшеницы.

Таблица 2. Корреляционная связь (r) отношения F_v/F_m с морфологическими признаками растений пшеницы и её значимость (P)

Признаки растения	r	P
Длина подколосового междоузлия	$0,481 \pm 0,172$	0,009
Диаметр подколосового междоузлия	$0,606 \pm 0,156$	$< 0,001$
Толщина стенки подколосового междоузлия	$0,528 \pm 0,166$	0,004
Длина второго сверху междоузлия	$0,410 \pm 0,179$	0,030
Диаметр второго сверху междоузлия	$0,719 \pm 0,136$	$< 0,001$
Толщина второго сверху междоузлия	$0,345 \pm 0,184$	0,072
Ширина флагового листа	$0,746 \pm 0,130$	$< 0,001$

Исследования показали, что наиболее сильная связь проявляется между признаками строения растений и относительным числом потенциально активных реакционных центров (F_v/F_m). Корреляция других признаков ФС II с внешним и внутренним строением стебля была слабой и несущественной, поэтому её показатели в таблицах не приводятся.

Таблица 3. Корреляционная связь (r) отношения F_v/F_m с анатомическими признаками стебля пшеницы и её значимость (P)

Признаки стебля	r	P
Признаки подколосового междоузлия		
Число проводящих пучков первичной коры (ППпк)	$0,325 \pm 0,184$	0,092
Диаметр флоэмы ППпк	$0,646 \pm 0,150$	<0,001
Диаметр сосудов метаксилемы ППпк	$0,517 \pm 0,168$	0,005
Диаметр сосудов протоксилемы ППпк	$0,535 \pm 0,157$	0,003
Число проводящих пучков паренхимы (ППпар)	$0,424 \pm 0,177$	0,024
Диаметр флоэмы ППпар	$0,608 \pm 0,156$	<0,001
Диаметр сосудов метаксилемы ППпар	$0,404 \pm 0,179$	0,033
Диаметр сосудов протоксилемы ППпар	$0,486 \pm 0,171$	0,009
S выполненной части стебля/1ППпар	$0,605 \pm 0,156$	<0,001
Признаки второго сверху междоузлия		
Число проводящих пучков ППпк	$0,140 \pm 0,194$	0,477
Диаметр флоэмы ППпк	$0,383 \pm 0,181$	0,043
Диаметр сосудов метаксилемы ППпк	$0,373 \pm 0,182$	0,050
Диаметр сосудов протоксилемы ППпк	$0,472 \pm 0,173$	0,011
Число ППпар	$0,509 \pm 0,169$	0,006
Диаметр флоэмы ППпар	$0,612 \pm 0,155$	<0,001
Диаметр сосудов метаксилемы ППпар	$0,406 \pm 0,179$	0,032
Диаметр сосудов протоксилемы ППпар	$0,279 \pm 0,188$	0,150
S выполненной части стебля/1ППпар	$0,584 \pm 0,159$	0,001

Виды пшеницы с более толстой соломиной, особенно во втором междоузлии, имели более высокую плотность размещения реакционных центров на единице площади флагового листа. Это были тетраплоидные и гексаплоидные пшеницы. Длина междоузлий и толщина стенки соломины в средней мере коррелировали с F_v/F_m . Сильная связь этого физиологического признака наблюдалась с шириной флагового листа ($r=0,746 \pm 0,130$). Эти данные могут указывать на то, что поверхность листа и стебля, приходящаяся на единицу длины этих органов, может маркировать их фотосинтетические параметры.

Фотосинтетический аппарат листа и стебля функционально связан с развитием проводящих пучков и их проводящих тканей. Относительно небольшие периферические пучки стебля граничат с хлоренхимой остатков первичной коры, снабжают её водой и минеральными веществами и обеспечивают отток ассимилятов. В верхних междоузлиях один такой проводящий пучок первичной коры (ППпк) обслуживает два примыкающие к нему островка хлоренхимы. Расчёты показывают, что показатель конструкции ФС II (F_v/F_m) существенно коррелирует с размерами флоэмы, диаметром сосудов метаксилемы и протоксилемы (табл.3). При этом интересен следующий феномен: по мере уменьшения ассимиляционной функции второго междоузлия связь параметров его ППпк с F_v/F_m уменьшается. О снижении фотосинтетической активности второго междоузлия по сравнению с первым (подколосовым) можно судить по закрытости его листовым влагалищем и по меньшему числу клеток, формирующих островки хлоренхимы.

Крупные проводящие пучки, погруженные в толщу слоя паренхимы (ППпар), обеспечивают лист и генеративные органы водой и осуществляют отток ассимилятов из листьев. Число таких пучков сильнее коррелирует с параметром F_v/F_m по сравнению с проводящими пучками первичной коры. Особенно велика линейная связь F_v/F_m с диаметром флоэмы: $r=0,608 \pm 0,156$ в подколосовом междоузлии и $r=0,612 \pm 0,155$ – во втором. Весьма существенной ($P<0,001$) оказалась связь числа реакционных центров с выполненной частью стебля (S), приходящейся на один проводящий пучок паренхимы.

Из приведенных данных следует, что у образцов пшеницы с увеличением отношения F_v/F_m наблюдается увеличение фотосинтезирующей поверхности подколосового междоузлия, увеличиваются потенциальные возможности проводящих пучков: увеличивается площадь флоэмы и диаметр сосудов ксилемы, а также площадь поперечного сечения, обслуживаемая одним пучком паренхимы. Эти признаки были лучше выражены у тетраплоидных и гексаплоидных пшениц по сравнению с диплоидными и октоплоидными. Они могут свидетельствовать о филогенетических структурных и функциональных преобразованиях в строении растений. Обнаруженные связи между параметрами стебля и фотосистемы пшеницы могут быть использованы при разработке селекционных программ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Левонтин Р. Генетические основы эволюции. – Москва: Мир, 1978. – С. 171–186.
2. Пшеницы мира / В.Ф.Дорофеев, Р.А.Удачин, Л.В.Семёнов и др.; Под ред. В.Ф.Дорофеева. – 2-е

изд., перераб. и доп. – Ленинград: Агропромиздат, 1987. – 560 с.

3. Тарасевич Е.И. К вопросу о генетике продуктивности растений // Генетика продуктивности сельскохозяйственных культур. – Минск: Наука и техника, 1978. – С. 125–130.

4. Челак В.Р. Система размножения пшеницы *Triticum L.* – Кишинев: Штиинца, 1991. – 320 с.

5. Конарев В.Г. Белки растений как генетические маркеры. – Москва: Колос, 1983. – С. 56–68.

6. Kautsky H. and Hirsch A. Chlorophyllfluoreszenz und Kohlenstoffassimilation. Das Fluoreszenzverhalten grüner Pflanzen // *Biochem. Zeitschrift.* – 1934. – 274. – P. 423–434.

7. Krause G.H., Weis E. Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. 2. Interpretation of fluorescence signals // *Photosynth. Research.* – 1984. – 5. – P. 139–157.

8. Schreiber U., Schliwa W., Bilger U. Continuous recording of photochemical and non-photochemical fluorescence quenching with a new type of a modulation fluorometer // *Photosynth. Research.* – 1986. – 10. – P. 51–62.

9. Demmig B., Björkman O. Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O₂ evolution in leaves of higher plants // *Planta.* – 1987. – 171. – P. 171–184.

10. 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.

11. Moffatt J.M., Sears R.G., Cox T.S., Paulsen G.M. Wheat high temperature tolerance during reproductive

growth. 2. Genetic analysis of chlorophyll fluorescence // *Crop Science.* – 1990. – 30:4. – P. 886–889.

12. Xu X., Monneveux P., Damania A.B. et al. Evaluation for salt tolerance in genetic resources of *Triticum* and *Aegilops* species // *Plant Genet. Resources Newsletter.* – 1993. – 96. – P. 11–16.

13. McMichael A.C., Harris M., Camlin M.S. Application of chlorophyll fluorescence kinetics in the study of varietal reaction to stress // *Plant varieties and seed.* – 1989. – 2:1. – P. 45–51.

14. Moustakas M., Ouzounidou G., Lannoye R. Rapid screening for aluminium tolerance in cereals by use of the chlorophyll fluorescence test // *Plant Breeding.* – 1993. – 111:4. – P. 343–346.

15. Градчанинова О.Д. Анатомическое строение корня и стебля некоторых видов пшеницы и полежание // *Бюллет. ВИР.* – 1981. – 106. – С. 76–80.

16. Тетерятченко К.Г. Анатомический анализ исходного материала мягкой пшеницы на продуктивность, морозостойкость и устойчивость к полеганию // *Научно-техн. бюлл. ВИР.* – 1984. – Вып. 146. – С. 28–32.

17. Тарутина Л.А., Куделко Л.И. Исследование корреляционных связей между количественными признаками у яровой пшеницы // *Генетика продуктивности сельскохозяйственных культур.* – Минск: Наука и техника, 1978. – С. 73–77.

18. Berger M. Amélioration génétique de la productivité, gènes de nanisme et photosynthèse chez le blé tendre (*Triticum aestivum L.*). Thèse de Doctorat de l'INP. – Toulouse, 1991.